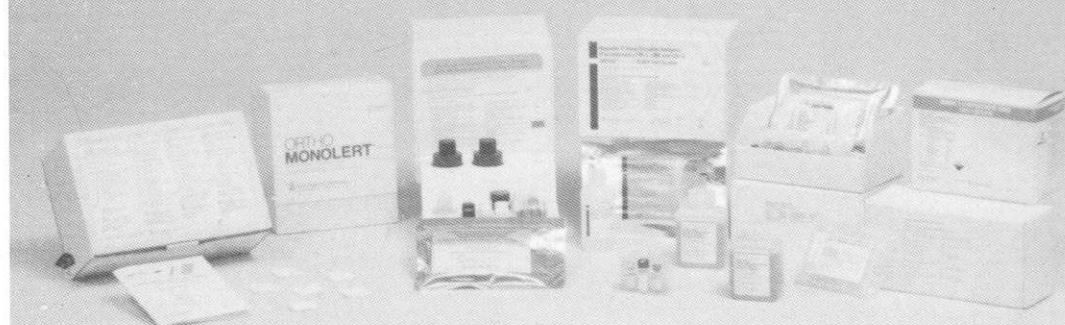


**VII REUNION ANUAL
SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE
CHILE**

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

**VALDIVIA - CHILE
24 al 28 de Agosto de 1993**

...Para una transfusión segura



Ortho Diagnostic Systems

Bio
JSP

**Una empresa al servicio de
la investigación científica**

**Experiencia y calidad en la fabricación de
Equipos de Electroforesis.**

SERVICIO TECNICO:

- Reparación de micropipetas de todas las marcas, entrega en 48 hrs.
- Mantención de todo tipo de microscopios y equipos de laboratorio en general.

Cuevas 1447 Santiago-Chile Fono 5552753

**VII REUNION ANUAL
SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE**

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

PATROCINA:

CONICYT

**DEPARTAMENTO TECNICO DE INVESTIGACION
DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE**

**DIRECCION DE INVESTIGACION
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE**

FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA CELULAR

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE

AUSPICIAR

**BIOS CHILE I.G.S.A.
BIO J.S.P.
CENTRO DE EQUIPO MAYOR (CEM)
FACULTAD DE CIENCIAS UNIVERSIDAD DE CHILE**

**DARWIN MERINO
EMPRESA EDUARDO PEREZ
EMPRESA RIVAS**

**EQUILAB
IVENS
JOHNSON & JOHNSON MEDICAL**

**MERCK
PARRAGUEZ - BENEZET
P+L ELECTRONICA**

**TRILAB
WEISSER ANALITICA**

**VALDIVIA - CHILE
24 al 28 de Agosto de 1993**

**VII REUNION ANUAL
SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE**

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

Valdivia, 26 al 28 de Agosto de 1993

RESUMEN DEL PROGRAMA

Jueves 26

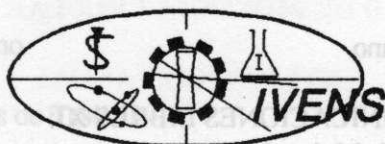
10:30 - 12:00	Inscripción
11:30 - 12:00	Café
12:00 - 13:00	CONFERENCIA PROFESOR: OSVALDO CORI Soberón, X. (Instituto de Biotecnología, UNAM, México). Evolución in vitro de actividad enzimática mediante mutagénesis combinatoria.
13:00 - 14:30	Almuerzo
14:30 - 16:00	COMUNICACIONES LIBRES I: Regulación y Control de Metabolismo
	COMUNICACIONES LIBRES II: Mátriz y Adhesión Celular
16:00 - 16:15	CAFE
16:15 - 17:45	COMUNICACIONES LIBRES III: Biotecnología
	COMUNICACIONES LIBRES IV: Biomedicina
18:00 - 20:00	Avances de Tesis I
20:15 - 21:30	FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA CELULAR PREMIO A LAS MEJORES TESIS EN PREGRADO Y POSTGRADO
21:30	Cena

Viernes 27

8:00 - 9:00	Desayuno
9:00 - 10:30	Avances de Tesis II
10:30 - 11:00	Café
11:00 - 13:00	INCORPORACIONES Y COMUNICACIONES LIBRES V: Respuesta Celular a agentes tóxicos INCORPORACIONES Y COMUNICACIONES LIBRES VI: Biología Molecular I
13:00 - 14:30	Almuerzo
14:30 - 16:30	COMUNICACIONES LIBRES VII Estructura de Proteínas COMUNICACIONES LIBRES VIII Desarrollo y Citodiferenciación
16:00 - 16:30	Café
16:30 - 18:00	COMUNICACIONES LIBRES IX Enzimología COMUNICACIONES LIBRES X Mecanismos de Regulación y Proliferación Celular.
18:00 - 18:30	Café
18:30 - 20:30	SIMPOSIO I: Educación en la Biología
20:30 - 21:30	MEDALLA: Dr. Herman Niemeier F. HOMENAJE A CARGO DE LA SOCIEDAD DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE CHILE.
21:30	Cena

Sábado 28

8:00 - 9:00	Desayuno
9:00 - 10:00	COMUNICACIONES LIBRES XI: Biología Molecular II COMUNICACIONES LIBRES XII: Modificación Química y Expresión de Proteínas
10:15 - 10:30	Café
10:30 - 11:30	CONFERENCIA: DR. LUIS IZQUIERDO HOMENAJE A CARGO DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE: Dr. José J. Minguell, (Universidad de Chile): Biología del Trasplante de médula Osea... y otras emociones.
11:30 - 14:00	SIMPOSIO II Ciencia, Política y Medios de Comunicación



IVENS Y CIA. LTDA.

LOS LEONES 1088
FONO: 2336014 - FAX: 2310734
REPRESENTANTE
PARA CHILE DE

Forma Scientific, Inc.

- Gabinete de Seguridad Biológica y Campana de Flujo Laminar
- Incubadoras de CO₂, Control por Microprocesador



BIOS CHILE Ingeniería Genética S.A.

- Productos y Equipos para Biología Celular, Biología Molecular, Inmunología, Cultivo Celular y Microbiología.
- Síntesis de Péptidos y Oligonucleótidos.
- Anticuerpos Monoclonales y Policlonales a Pedido.
- Representantes Exclusivos de GIBCO-BRL.
- Termocicladores MJ Research.

Fono: (562) 2381878 - Fax: (562) 2394250

PROGRAMA

Jueves 26 de Agosto de 1993

12:00

CONFERENCIA PROFESOR OSVALDO CORI

Osuna, J., Flores, H., Viadiu, H., Munguía, M.E. y Soberón, X. (Instituto de Biotecnología, UNAM, México). Evolución in vitro de actividad enzimática mediante mutagénesis combinatoria.

14:30

COMUNICACIONES LIBRES I

Regulación y Control del Metabolismo

PRESIDENTE: N. Carvajal

SECRETARIO: A. Valenzuela

14:30

Garrido, A., Gárate, M., Campos, R., y Valenzuela, A. (Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile). Respuesta adaptativa orgánica al consumo de ácidos grasos poliinsaturados N-3 de origen marino.

14:45

Hidalgo, P., Cárdenas, L., Morales, M.N., y Bronfman, M. (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Mecanismos de inhibición de proteína quinasa C por palmitoil-carnitina.

15:00

Preller, A., y *Wilson, J.E. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, *Departamento de Bioquímica, Michigan State University). Localización subcelular de hexoquinasas en tejidos de rata.

15:15

Cárdenas, M.L. y Cornish-Bowden, A. (Laboratoire de Chimie Bactérienne, CNRS, Marsella, Francia). Incapacidad de la canalización de sustratos para disminuir la concentración de metabolitos libres.

15:30

Carvajal, N., Vega, E., Erices, A., Bustos, D. y Torres, C. (Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). Posibles roles de alanopina y octopina deshidrogenasas en el corazón de conchilepas conchilepas.

15:45

Cornish-Bowden, A. y Hofmeyr, J.H.S. (Laboratoire de Chimie Bactérienne, CNRS, Marsella, Francia y Department of Biochemistry, University of Stellenbosch, Sudáfrica). Análisis del control de un sistema metabólico sin saber las propiedades cinéticas de las enzimas componentes.

14:30 **COMUNICACIONES LIBRES II**

Mátriz y adhesión Celular

PRESIDENTE: T. Núñez

SECRETARIO: N. C. Inestrosa

14:30 **Rodríguez, J.P.**, Carrino, D. y Caplan, A.I. (Unidad de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile y Skeletal Research Center, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA). Estudios de estructura -función de proteoglicanos. Caracterización de un proteoglicano de dermatan sulfato y su rol en mineralización.

14:45 **Melo, F.** y Brandan, E. (Unidad de Neurobiología Molecular, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). El Proteoglican decorina es solubilizado específicamente por heparina desde la matriz extracelular de músculo esquelético de rata.

15:00 **Conget, P.** y Minguell, J.J. (Unidad de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile). Rol adhesivo de proteoglicanos de condroitin sulfato en progenitores hematopoyéticos.

15:15 **Castro, A.**, Iturrieta, J. y Roseblatt, M. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Participación de los receptores de adhesión celular en la interacción de los linfocitos con las células estromales de los órganos linfoides secundarios.

15:30 **Martínez, J.**, Santibáñez, J.F. y Silva, S. (Unidad de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile). Plasminógeno y activador del plasminógeno median la capacidad invasiva de células leucémicas.

15:45 **Fernández, M.S.**, Araya, M. y Arias, J.L. (Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile). Etapas cruciales en la biomineralización de la cáscara del huevo.

16:15 **COMUNICACION LIBRE III**

Biotechnología

PRESIDENTE: R. Vicuña

SECRETARIO: A.M. Kettlum

16:15 **Céspedes, R.** y Vicuña, R. (Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Degradación de arilglicósidos por un consorcio bacteriano.

16:30 **Larraín, J.** y Vicuña, R. (Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Sistema-Ligninolítico de Ceriporiopsis subvermisporea en fase sólida.

- 16:45 **Lobos, S.,** Tapia, J., Salas, L. y Vicuña, R. (Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Componentes del sistema ligninolítico del hongo basidiomicete *Ceriporiopsis subvermispora*.
- 17:00 **Egaña, L.** Steiner, J. y Eyzaguirre, J. (Laboratorio de Bioquímica, P. Universidad Católica de Chile y Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Acetil esterases y acetil xilano esterases de *Penicillium purpurogenum*.
- 17:15 **Aguirre, C.,** Nazal, A., Durán, N., Sposito, E. y Curotto, E. (Laboratorio de Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, Chile e Instituto de Química, UNICAMP, Brasil). Producción y Estabilización de Beta-xilanasas extracelulares de *Aspergillus cervinus* 2M1.
- 17:30 **Elizalde, J.J.,** Juica, F., Jamett, A., Aguayo, J., Leal, J., Yudelevich, A., De Ioannes, A.E., Becker, M.I. (Bios Chile Ingeniería Genética S.A., P. Universidad Católica de Chile y Pesquera Ventisqueros S.A.). Estudio de la respuesta inmune humoral de salmonídeos contra el agente causal del síndrome del salmón coho.
- 16:15 **COMUNICACIONES LIBRES IV**
Biomedicina
- PRESIDENTE: J. J. Minguell
SECRETARIO: J.L. Arias
- 16:15 **Leighton, F.,** Arteaga, A., Guasch, V., Catalán, L. Martínez, A. Pollak, F., Acosta, A.M. Miquel, A., Rojas, L. Castro, C. Solís de Ovando, F., Barriga, C. (Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Nutrición y Laboratorio de Cardiología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). Evaluación de novedosos factores de riesgo aterogénico en hombres con diagnóstico angiográfico y colesterol plasmático menor de 240mg/dl.
- 16:30 **Behrens, M.I.,** Jalil, P., Serani, A., Latorre, R., Vergara, F. (Servicio de Neurología Hospital Sótero del Río, Centro Scanner, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Centro de estudios Científicos de Santiago). Posible rol de los canales de K^+ sensibles a la apamin en la distrofia miotónica.
- 16:45 **Alvarez, J.,** y Moreno, R. (Unidad de Neurobiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). La proteína precursora del amiloide (APP) es mitogénica para la célula de Schwann.
- 17:00 **Figueroa, C.,** Pizarro, M., Solís, N., y Accatino, L. (Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). (Patrocinio: Amigo, L.). Efecto de sales biliares de diferente hidrofobicidad sobre proteínas de membrana en la colestasia hepatocelular.

17:15 **Bertin, P., Marti, G.** (Departamento de Hematología / Oncología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile, CBER, FDA, NIH, Bethesda, Maryland, USA. (Patrocinio: Koenig, C.) Análisis de genes de la región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH Ig) en leucemias linfáticas crónicas de origen B.

17:30 **Kawada, M.E. y Santos, M.J.** (Departamento de Biología Celular y Molecular, P. Universidad Católica de Chile). Localización de proteínas de membrana peroxisomal y lisosomal en afecciones genéticas humanas de la biogénesis peroxisomal.

AVANCES DE TESIS I

COORDINADORES: **E. Del Solar**
A. Venegas

18:00 **Imarai, M., y Nathenson, S.G.** (Department of Microbiology and Immunology. Albert Einstein College of Medicine, USA). (Patrocinio: Venegas, A.). Características estructurales del receptor de células T citotóxicas que reconocen antígenos presentados en el contexto del MHC H-2K^b.

18:30 **Figueroa, J., Richter, D.** (Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Institut für Zellbiochemie und Klinische Neurobiologie, Universität Hamburg, Hamburg, Alemania). (Patrocinio: Burzio, L.). Organización de los genes de isotocina del pez teleosteo.

19:00 **Moreno, R.D. e Inestrosa, N. C.** (Departamento de Biología Celular y Molecular Facultad de Ciencias, P. Universidad Católica de Chile). La acetilcolinesterasa de cerebro de mamífero: estudios estructural y funcional.

19:30 **Chiong, M. y Pérez, L.M.** (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Aislamiento de genes de Citrus limon involucrados en la respuesta contra fitopatógenos.

20:15 **FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA CELULAR**
PREMIO A LAS MEJORES TESIS EN PREGRADO Y POSTGRADO.

Viernes 27 de Agosto de 1993

9:00 **AVANCES DE TESIS II**

COORDINADORES: **J. Babul**
R. Devés

9:00 **Herrera, R. y Leighton, F.** (Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos, P. Universidad Católica de Chile). Presencia de la actividad acetil CoA hidrolasa

en peroxisomas de hígado de rata.

- 9:30 **Venegas, J. y Solari, A.** (Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Estudio de las polimerasas de *Trypanosoma cruzi*.
- 10:00 **Nualart, F., Rodríguez, E.M.** (Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile). Estudio de la biosíntesis y procesamiento del material secretorio del órgano subcomisural.
- 11:00 **TRABAJO DE INCORPORACION
COMUNICACIONES LIBRES V**
Respuesta Celular a agentes tóxicos
- PRESIDENTE: M. Rosemblatt
SECRETARIO: M. Santos
- 11:00 **Vollrath, V., Wielandt, A., Guzmán, S.K., González, S.** (Departamentos de Gastroenterología y Anatomía Patológica, P. Universidad Católica de Chile). (Patrocinio: Chianale, J.). Incorporación a la Sociedad de Biología Celular de Chile. Inducción del gen *mdr3* en el intestino de ratón: efecto de esteroides vegetales.
- 11:30 **Urrea, R. y Bronfman, M.** (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Hidrolasa de ésteres del coenzima A con carcinógenos no genotóxicos. Distribución subcelular en especies que responden a proliferación peroxisomal y que no lo hacen.
- 11:45 **Díaz, M., Silva, E., De Ioannes, A., Jamett, A. y Becker, M.I.** (Departamento de Química Biológica, Facultad de Química y Unidad de Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile y BIOS CHILE I.G.S.A.). Efecto tóxico de fotoproductos de triptófano sensibilizados por la vitamina b : desarrollo de anticuerpos monoclonales.
- 12:00 **Edwards, A.M., Barredo, F., Silva, E., De Ioannes, A y Becker, M.I.** (Departamento de Química Biológica, Facultad de Química y Unidad de Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Citotoxicidad sobre células tumorales humanas HL-60 de soluciones irradiadas de triptófano y riboflavina.
- 12:15 **Andrade, W., Cabrera, M.E., Leques, M.E., Campbell, M., Risueño, C., Barriga, F.** (Centro de Investigaciones Médicas y Departamento de Hematología-Oncología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile; Laboratorio de Hematología, Hospital Salvador; Departamento de Hematología, Hospital Roberto del Río). (Patrocinio: Dabiké, M.). Evidencias de un cluster de diferenciación biológica en leucemia linfoblástica aguda (LLA) en Chile.

- 12:30 **Matus, V. y González, B.** (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile).
Metabolización de clorofenoles por *Alcaligenes eutrophus* JMP134 (pJP4).
- 11:00 **TRABAJOS DE INCORPORACION
COMUNICACIONES LIBRES VI**
Biología Molecular I
- PRESIDENTE: **J. Eyzaguirre**
SECRETARIO: **P. Carvallo**
- 11:00 **Toro, G.C. y Galanti, N.** (Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Incorporación a la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile. Identificación de histona H2 en la cromatina de *T. Cruzi*.
- 11:30 **Antonelli, J.M., Olate, J.** (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Incorporación a la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile.
Estudios de funcionalidad de la proteína Gs de oocitos de *Xenopus laevis*.
- 12:00 **Valiente, A., Berti, M., Frey, P.A. y Cardemil, E.** (Departamento de Química, Universidad de Santiago de Chile e Institute for Enzyme Research, U. Wisconsin-Madison, USA). Caracterización de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) C364s de *Saccharomyces cerevisiae*.
- 12:15 **Gatica, M., Jedlicki, A., Connelly, C. y Allende, J.E.** (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Efectos de inhibidores sobre una mutante de la subunidad alfa de la cascina quinasa II de *Xenopus Laevis*.
- 12:30 **León, G., Krauskopf, M.** (Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia). Identificación de *renibacterium salmoninarum* por la reacción de la polimerasa en cadena.
- 12:45 **Vera, M. I.** (Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia). (Patrocinio: Krauskopf, M.). Reprogramación de la expresión de genes ribosomales durante la aclimatización de *C. carpio*.
- 14:30 **COMUNICACIONES LIBRES VII**
Estructura de Proteínas
- PRESIDENTE: **H. Cid**
SECRETARIO: **G. González**
- 14:30 **González, G., González, C. y Merino, P.** (Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso). Estabilidad térmica de la proteasa de *Cucurbita ficifolia* en presencia de aditivos.

- 14:45 **Godoy, M., Bunster, M.** (Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). Estabilidad de proteínas. Experimentos de denaturación-renaturación en B-Lactamasas.
- 15:00 **Martínez-Oyanedel, J.A.** (Departamento Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). Cristalización de proteínas. Primeros intentos de cristalización de la proteasa del fruto de Cucurbita ficifolia.
- 15:15 **Arbildua, J., Lagos, R. y Monasterio, O.** (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Caracterización de la unión de los péptidos carboxilo terminales de tubulina a tubulina-S.
- 15:30 **Cid, H., Gazitúa, F.** (Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). Interacciones que regulan el plegamiento helicoidal en proteínas.
- 15:45 **Reyes, A.M., Iriarte, A. y Martínez-Carrión, M.** (School of Biological Sciences, University of Missouri-Kansas City, Kansas City, USA e Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia). Plegamiento in vitro de las formas precursora y madura de una proteína mitocondrial.
- 14:30 **COMUNICACIONES LIBRES VIII**
Desarrollo y Citodiferenciación
- PRESIDENTE: M.I. Becker**
SECRETARIO: C. Leyton
- 14:30 **Pey, R., Izquierdo, L.** (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Establecimiento del primer epitelio en el embrión de ratón.
- 14:45 **Morales, B.A. y Bruzzone, M.E.** (Unidad de Reproducción, Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Cambios de la superficie epitelial uterina inducidos por dl-Propранolol.
- 15:00 **Koenig, C., Núñez, R., Munizaga, A. y Dabiké, M.** (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Relación entre morfogénesis de glándulas gástricas y sulfatación de los proteoglicanos.
- 15:15 **Mancilla, A., Faúndez, V., Izquierdo, L., González, A.** (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). El receptor de EGF en la implantación in vitro del blastocisto de ratón.

- 15:30 **Zárraga, A.M., Goicoechea, O.G y Siddiqui, M.A.Q.** (Instituto de Bioquímica, Instituto de Embriología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile y Anatomy and Cell Biology Department. Health Science Center, SUNY, Brooklyn, N.Y. USA). (Patrocinio: Amthauer, R). Estudios de miogénesis cardíaca por hibridación in situ.
- 15:45 **Ferrada, D. y Sans, J.** (Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Cambios en la síntesis de proteínas en células de raíces de *Allium cepa* L. inducidos por hipometilación del DNA.
- 16:15 **COMUNICACIONES LIBRES IX**
Enzimología
- PRESIDENTE: J.C. Slebe
SECRETARIO: S. Bazaes
- 16:15 **Bazaes, S., Silva, R., Goldie, H., Cardemil, E. y Jabalquinto, A.M.** (Departamento de Química, UMCE, Universidad de Santiago de Chile, y Universidad de Saskatchewan, Canadá). Modificación química de residuos de arginina y lisina de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica de *E. coli*.
- 16:30 **Ludwig, H., Yañez, A. y Slebe, J.C.** (Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). Interacción de fructosa-1,6 bisfosfatasa de riñón de cerdo con sondas fluorescentes.
- 16:45 **Galleguillos, M., Valenzuela, M.A., Kettlun, A.M., Chayet, L., Collados, L., Mancilla, M. y Traverso-Cori, A.** (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Actividades ATPásica y ADPásica presentes en corazón de rata.
- 17:00 **Kettlun, A.M., Valenzuela, M.A., Chiong, M., Silva, M.A*, Bustamante, J.*, Briones, A*, Chayet, L., Collados, L., Mancilla, M. y Traverso-Cori, A.** (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. *Hospital J.J. Aguirre, Universidad de Chile). Estudios bioquímicos de ATP-difosfohidrolasa de placenta humana y su posible relación con la nutrición fetal.
- 17:15 **Carvajal, N., Torres, C. y Uribe, A.** (Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción). Interacción de arginasa hepática humana con Mn^{2+} y Zn^{2+} .
- 17:30 **Saez, D. y Slebe, J.C.** (Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). Inmovilización via anticuerpos en el estudio de la asociación entre enzimas.

- 16:15 **COMUNICACIONES LIBRES X**
Mecanismos de Regulación y Proliferación Celular.
PRESIDENTE: A. González
SECRETARIO: M. Fernández
- 16:15 **Concha, M.** y Sans, J. (Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Evidencias que sugieren que el inicio de la mitosis es controlado negativamente por un gen que se expresa en G1.
- 16:30 **Moraga, P.,** Martínez, J. y Núñez, M.T. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Efecto de transferrina y hierro en la proliferación de células hematopoyéticas.
- 16:45 **Amthauer, R.,** Kodukula, K., Gerber, L., Brink, L. y Udenfriend, S. (Department Neurosciences, Roche Institute of Molecular Biology, Nutley, NJ. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile). Requerimientos para el procesamiento del péptido de señal COOH-terminal de las proteínas ancladas a membrana via glicosil fosfadil- inositol (GPI).
- 17:00 **Núñez, L.,** Amigo, L., Rigotti, A., Puglielli, L. y Nervi, F. (Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile). Identificación de una glicoproteína canalicular asociada al transportador vesicular de lípidos biliares.
- 17:15 **Gysling, K.,** Forray, M.I., Andrés, M.E. y Bustos, G. (Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). El lecho de la estría terminal como modelo para estudiar la liberación de noradrenalina en el SNC.
- 17:30 **Campos, E.O.,** Rodríguez, S., e Inestrosa, N. C. (Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Ontogenia de la acetilcolinesterasa en Concholepas concholepas.
- 18:30 **SIMPOSIO I: EDUCACION EN BIOLOGIA**
Coordinador: Alarcón, O.
- Chaimovich, H.** (Universidad de Sao Paulo, Brasil).
- Fonseca, L.** (C.N.P.Q., Brasil).
- Foradori, A.C.** (P. Universidad Católica de Chile).
- Meneghini, R.** (Universidad de Sao Paulo, Brasil).
- 20:30 **MEDALLA DR HERMAN NIEMEYER F. HOMENAJE A CARGO DE LA SOCIEDAD DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE CHILE.**

Sábado 28 de Agosto de 1993

9:00 COMUNICACIONES LIBRES XI
Biología Molecular II

PRESIDENTE: L. Burzio
SECRETARIO: R. Lagos

9:00 Krautwurst, H., Marcus, F. y Cardemil E. (Departamento de Química, Universidad de Santiago de Chile, y Chiron Corporation, Emeryville, California). Corrección a la secuencia del gen de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica de *Saccharomyces cerevisiae*.

9:15 Seeger, M. y Jerez, C.A. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). La limitación de fosfato afecta la expresión génica global en *Thiobacillus ferrooxidans*.

9:30 Seeger, M., González, C., Salas, A., Lagos, R. y Monasterio, O. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Efecto de la sobreproducción de las chaperoninas GroEL y GroES sobre la solubilidad de polipéptidos C-terminal de las subunidades alfa y beta de tubulina expresadas en *E. coli*.

9:45 Concha, I.I., Figueroa, P., Yañez, A., Burzio, L., Pratt, B. y Chronwall, B. (Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile y Medical School, University of Missouri-Kansas City, U.S.A.). Regulación de la expresión del gen de proopiomelanocortina (POMC) en testículo de rata.

10:00 Delgado, F., Mansilla J., Silva, T., Brito, M., Concha, I. y Burzio, L.O. (Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile). Presencia de snRNP en el núcleo de gametos masculinos de distintos organismos.

9:00 COMUNICACIONES LIBRES XII
Modificación Química y Expresión de proteínas.

PRESIDENTE: F. Leighton
SECRETARIO: J. Alvarez

9:00 Fürst, S., Silva, E., Edwards, A.M., Becker, M.I. y De Ioannes, A. (Facultad de Química y Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Comportamiento fotoquímico anaeróbico de la tirosina sensibilizado por la riboflavina.

9:15 Blanco, C., González, G. y Tapia, G. (Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso). Efecto de iones metálicos en la formación de fotoproductos en soluciones nutricionales.

9:30 Nieto, S., Sanhueza, J., Ganga, A., Rojas, E. y Valenzuela, A. (Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos, INTA., Universidad de Chile). Optimización de ácidos grasos poliinsaturados n-3 (AGn-3) de origen marino para uso nutricional y/o farmacológico.

9:45 O'Reilly, S., Palma, B., Erazo, S., Robledo M. y Meneses, P. (Institutos de Química y de Biología, Universidad Católica de Valparaíso, M.R.Laboratory, Midwestern University, Chicago). (Patrocinio: Reyes, J.). Cambios en el contenido de proteínas y lípidos durante la germinación de semillas de A. caven (MOLL).

10:00 Lorca, C., Retamal, C., Urzúa, J., López, M.L. (Departamento de Biología Celular y Genética, Servicio de Fisiopatología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Análisis electroforético de proteínas espermáticas y fluido epididimario de potro.

10:30 **CONFERENCIA: DR. LUIS IZQUIERDO**
HOMENAJE A CARGO DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR
DE CHILE

Coordinadores: J.L. Arias
M.I. Becker
R. Devés

Minguell, J.J. (Unidad de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile).
Biología del Trasplante de médula Osea... y otras emociones.

11:30 **SIMPOSIO II: CIENCIA, POLITICA Y MEDIOS**
DE COMUNICACION.

Coordinador: Krauskopf, M.

Leopoldo Demeis (Universidad Federal de Río Janciro, Brasil). El concepto de creatividad entre científicos y estudiantes. Conferencia en honor del Dr. Jorge Allende, Premio Nacional de Ciencias Naturales, 1992. Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile.

Alfred Welljams-Dorof (ISI, U.S.A).

Gabriel Valdes (Presidente, Senado de Chile).

Igor Saavedra (Presidente, ICSU).

Jorge Allende (Presidente, Academia Chilena de Ciencias).

CARACTERIZACIÓN DE LA UNIÓN DE LOS PEPTIDOS CARBOXILO TERMINALES DE TUBULINA A TUBULINA-S. (Characterization of the binding of tubulin C-terminal peptides to tubulin-S). Arbildua, J., Lagos, R. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La tubulina es un heterodímero de 110 kDa, compuesta por dos subunidades denominadas alfa y beta. El extremo carboxilo terminal es fundamental en la regulación de la polimerización de los microtúbulos, a través de su interacción con las proteínas MAPs y tau y con Ca^{2+} . La conformación de los últimos 40 aminoácidos de este dominio, de ambas subunidades, sólo ha sido estudiada *in vitro* y no se conoce si estos aminoácidos se encuentran libres o interactuando con el resto de la tubulina. La mezcla de péptidos carboxilo terminales de ambas subunidades interactúa con tubulina-S en presencia de DAPI. Por medio de intensidad y polarización de fluorescencia, se confirmó esta interacción, la cual fue independiente de la presencia de DAPI, pues al unir la sonda FITC a los péptidos carboxilo terminales se comprobó por polarización de fluorescencia su unión a tubulina-S. El complejo tubulina-S-péptido en presencia de DAPI, mostró una constante de disociación, de $1,6 \pm 0,6 \mu M$ y los complejos DAPI-tubulina-S una K_{dis} de $4 \pm 2 \mu M$. Sin embargo, el rendimiento cuántico de la sonda unida a tubulina-S disminuyó 2,5 veces respecto a la sonda unida a tubulina. La unión entre tubulina-S y los péptidos carboxilo terminales, en presencia de DAPI, no se modificó significativamente hasta 10 mM de NaCl y KCl, y se encontró un máximo de unión entre pH 7,3 y 7,7. Ca^{2+} y Mg^{2+} sobre 10 μM liberaron la sonda DAPI desde la tubulina-S.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1051-92.

EFFECTO DE TRANSFERRINA Y HIERRO EN LA PROLIFERACIÓN DE CELULAS HEMATOPOYETICAS. (Transferrin and iron as hematopoietic cells proliferation factors). Moraga, P., Martínez, J. y Núñez, M.T. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Transferrina (Tf) es un elemento necesario en la composición de medios de cultivo definidos que apoyan la proliferación de una gran variedad de líneas celulares. Se ha sugerido que Tf, además de donar hierro a las células, podría ejercer un papel de factor de crecimiento. Probamos la hipótesis anterior utilizando las líneas celulares K562 y HEL. Se diseñaron condiciones de incorporación celular de hierro en presencia y ausencia de transferrina; para evitar un posible efecto de Tf endógena en la proliferación, se determinaron curvas de proliferación en la presencia de anticuerpos policlonales contra transferrina, o los anticuerpos monoclonales contra el receptor de Tf (RTT) B 25/4 y 42/6, que inhiben y no inhiben la unión de Tf a su receptor, respectivamente.

En medios de composición definida, determinamos que las células K562 y HEL requieren de una concentración mínima de hierro para una normal proliferación. Esta concentración está muy por debajo de las concentraciones habituales en los medios de cultivo. Ni la ausencia de transferrina, ni la presencia de anticuerpos contra Tf o RTT inhibieron la proliferación celular, aunque en ocasiones se observó un retraso en el establecimiento de la fase logarítmica de crecimiento. Utilizando $^{59}Fe^{3+}$ -Nitrilotriacetato como quelato donador de hierro, observamos que ambas líneas celulares evidenciaron un mecanismo de adquisición de hierro independiente de transferrina. Observamos que las células K562 y HEL tienen la capacidad de reducir el Fe^{3+} a Fe^{2+} en el medio de incubación. Estos resultados apoyan la idea que el transportador membranal de hierro utiliza Fe^{2+} como especie transportable, y que las células tienen mecanismos de reducción de Fe^{3+} previo a su transporte.

Concluimos que en células K562 y HEL Tf no parece ser un factor intrínseco de proliferación. El hierro es un elemento indispensable para la proliferación. Las células estudiadas pueden adquirir el hierro necesario para proliferar mediante mecanismos de adquisición de hierro independientes de la endocitosis de Tf.

Financiado por FONDECYT 1080-91.

EFFECTO DE LA SOBREPRODUCCIÓN DE LAS CHAPERONINAS GroEL Y GroES SOBRE LA SOLUBILIDAD DE POLIPEPTIDOS C-TERMINAL DE LAS SUBUNIDADES α Y β DE TUBULINA EXPRESADAS EN *E. coli*. (Effect of chaperonins GroEL and GroES overexpression on the solubility of C-terminal polipeptides of α and β tubulin subunits expressed in *E. coli*). Seeger, M., González, C., Salas, A., Lagos, R. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las chaperoninas bacterianas GroEL y GroES facilitan el correcto plegamiento de diversas proteínas *in vivo*. Se ha descrito que TCP-1 y las chaperoninas GroEL y GroES interactúan *in vitro* con la tubulina. Polipéptidos C-terminal de las subunidades α y β de tubulina sobreproducidas en *E. coli* forman cuerpos de inclusión. Con el objeto de obtener péptidos más solubles en *E. coli* se estudió el efecto de la sobreproducción simultánea de estos polipéptidos y de la chaperoninas GroEL y GroES. Se construyó el plasmidio recombinante pMS52, que sobreexpresa GroEL y GroES y se introdujo en las diferentes cepas de *E. coli* que expresan los fragmentos RL-18a8, RL-11a2, RL-52a3 RL-81b12, RL-38p4, RL-60p8 y RL-33p6. Se analizó la presencia de los polipéptidos de tubulina en las fracciones soluble e insoluble de las cepas cotransformadas, y no se observó cambios en la solubilidad de los diferentes polipéptidos. Se está estudiando el efecto *in vitro* de las chaperoninas GroEL y GroES sobre la solubilidad de los diversos fragmentos de tubulina.

Financiado por proyectos Fondecyt 1051/92 y 0035/92.

PARTICIPACIÓN DE LOS RECEPTORES DE ADHESIÓN CELULAR EN LA INTERACCIÓN DE LOS LINFOCITOS CON LAS CELULAS ESTROMALES DE LOS ORGANOS LINFÓIDES SECUNDARIOS (Participation of adhesion cell receptors in the interaction of lymphocytes with stromal cells in secondary lymphoid organs). Castro, A., Iturrieta, J. y Roseblatt, M. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En el sistema inmune la transición entre los estados adherentes y no adherentes de los linfocitos es fundamental para el desarrollo de una respuesta inmune adecuada. Sin embargo, poco se conoce acerca de las interacciones que regulan la entrada, permanencia y salida de los linfocitos en los órganos linfoides secundarios. Con el fin de identificar los receptores y contra-receptores de adhesión involucrados en estos procesos hemos realizado ensayos de adhesión de linfocitos y líneas celulares linfoides a estromas completos de bazo de ratón, a líneas estromales (preparadas por fusión somática entre estos estromas y células L) y a células estromales de amígdala humana. Las líneas y células estromales han sido caracterizadas fenotípicamente, mediante marcadores para distintos tipos celulares (monocitos, células dendríticas interdigitantes y foliculares). La participación de los diferentes receptores de adhesión está siendo evaluada mediante el uso de anticuerpos monoclonales bloqueadores de la adhesión anti-integrinas u otros receptores. Los cambios en la dotación de los receptores de adhesión de los linfocitos como resultado de la diferenciación se investigan utilizando poblaciones linfocitarias antes y después de su activación. (Financiado por la Universidad de Chile DTI 311/91/182 y FONDECYT 1062-92).

INDUCCION DEL GEN *mdr3* EN EL INTESTINO DE RATON: EFECTO DE ESTEROIDES VEGETALES. (Overexpression of *mdr3* gene in the intestine of mice: Effect of plant steroids). Vollrath V, Wielandt A, Guzman S.K, Gonzalez S. Dptos. Gastroenterología y Anatomía Patológica. Universidad Católica de Chile. Patrocinio: J. Chianale.

La Glicoproteína-P (Gp170) es una proteína de membrana que actúa como bomba de flujo de drogas, dependiente de ATP, disminuyendo la concentración citosólica de compuestos citotóxicos. En el ratón, la Gp170 es codificada por una familia de genes *mdr* y en el intestino sólo se expresa el gen *mdr3*. Se ha sugerido que la Gp170 es responsable del transporte unidireccional de drogas hacia el lumen intestinal. Esteroides vegetales como diosgenina, soyaponina y digitonina son compuestos citotóxicos naturales presentes en alimentos vegetales. Formulamos la hipótesis que estos compuestos pueden inducir cambios en la expresión del gen *mdr3* en el intestino in vivo como respuesta detoxificadora. Ratones Rockefeller machos alimentados con dieta de caseína al 28% se usaron como controles. Los grupos experimentales recibieron además diosgenina 1%, digitonina 0.5 o 0.8%, soyaponina 1% o colesterol 1%. Se prepararon sondas específicas de los genes *mdr1*, *mdr2* y *mdr3* mediante RT-PCR. El RNA total fue extraído desde estómago (S), duodeno (D), yeyuno (J), íleon (I), colon (C) y recto (R) e hibridados por slot blot y Northern blot. Los niveles relativos de los RNA mensajeros (RNAm) del *mdr3* fueron determinados por análisis densitométrico de las autoradiografías. Por microscopia electrónica no se observó daño celular en la mucosa intestinal en los animales tratados. Se observó expresión heterogénea del gen *mdr3* en el tubo digestivo del ratón: S:0, D:1, J:2.2, I:7.5, C:9.1, R:4.1. Se detectó una inducción de 6 veces en J e I en los ratones tratados con digitonina al 0.8%. Diosgenina, soyaponina y colesterol no indujeron al gen *mdr3* en el intestino. Estos resultados sugieren que el gen *mdr3* es un sistema detoxificador inducible por esteroides vegetales y que puede proteger al intestino de compuestos citotóxicos presentes en la dieta. Fondecyt 093/92.

LA PROTEINA PRECURSORA DEL AMILOIDE (APP) ES MITOGENICA PARA LA CELULA DE SCHWANN. (APP is a mitogen for Schwann cells). Jaime Alvarez y Ricardo Moreno. U. Neurobiología Molecular, Fac. CC BB, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Algunos factores de crecimiento inhiben proteasas, e inhibidores de proteasas pueden ser mitógenos. Se estudió el efecto mitogénico de APP con inserto antiproteásico sobre la célula de Schwann de nervio de rata. Con el microscopio electrónico, se observó mitosis a los 7 días de la inyección local. Estas células estaban asociadas a axones amielínicos, mielínicos, o demielinizados. Las antiproteasas aprotinina y leupeptina también fueron mitogénicas. Hacia distal, el nervio era normal. La solución salina, APP calentado, o APP sin el inserto antiproteásico no produjeron mitosis. En un corte, se vía 3 núcleos de Schwann por cada 100 fibras mielínicas, fuesen tratadas o normales. En cambio, los núcleos asociados a fibras demielinizadas eran 10 veces más numerosos.

Concluimos que el APP y otros inhibidores de proteasas son mitogénicos para las células de Schwann, y que la célula de Schwann que entra en ciclo celular no puede mantener íntegra la mielina. La actividad mitogénica del APP puede participar en la patogenia de la enfermedad de Alzheimer.

Proyecto FONDECYT 660/92.

CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES DEL RECEPTOR DE CELULAS T CITOTOXICAS QUE RECONOCEN ANTIGENOS PRESENTADOS EN EL CONTEXTO DEL MHC H-2K^b. (Structural features of the T Cell Receptor for cytotoxic cells recognizing viral antigens presented in the context of MHC H-2K^b). Imarai M., & Nathenson S.G. Dept. of Microbiology and Immunology. Albert Einstein College of Medicine. USA. (Patrocinio: A. Venegas).

Los linfocitos T citotóxicos reconocen, a través de su receptor antigénico (TCR), los péptidos propios y extraños presentados en la superficie celular por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I. Se ha propuesto que las regiones hipervariables CDR1 y CDR2 del TCR interaccionarían con las hélices alfa del MHC y que el péptido unido a la cavidad antigénica interaccionaría con la región CDR3, formada por las uniones de los segmentos genicos V, D y J del receptor. A partir de este modelo se propone que antígenos que son presentados en un mismo MHC (Kb) deberían seleccionar un repertorio que tiene algunas características comunes en el TCR. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la estructura del TCR en la respuesta citotóxica contra antígenos restringidos a H-2K^b. Además, estudiar en detalle la interacción entre el péptido-MHC y el TCR mediante el uso de variantes del MHC y del péptido para establecer correlaciones entre la estructura del receptor y la manera particular con que se reconoce con el antígeno (especificidad fina). Se han aislado y caracterizado clones de linfocitos T citotóxicos de ratones C57BL/6 (B6) que reconocen el virus de la estomatitis vesicular (VSV), virus Sendai (SV), citocromo c, todos antígenos presentados por la misma molécula H-2K^b. A estos clones, se le ha determinado la secuencia de DNA del TCR, y por ende la región variable (V) y de joining (J) α y β utilizada en cada uno de ellos y la secuencia de aminoácidos de la región hipervariable CDR3. Se ha encontrado que los clones específicos para VSV son altamente heterogéneos tanto en su especificidad fina, como en la secuencia del TCR. Sin embargo, la mayoría de los clones utiliza el segmento genico V β 13. Los clones o cultivos totales de células T que reconocen el péptido SV y citocromo C no utilizan el segmento V β 13 en el TCR. Células que reconocen el virus Sendai presentan un mayor porcentaje de células V β 5+, CTL específicos para citocromo C, expresan mayoritariamente J α TA28. Los resultados demuestran que la presencia del péptido predomina sobre el MHC en la selección del TCR y que existe una alta heterogeneidad en la respuesta contra el octapéptido de VSV.

COMPORTAMIENTO FOTOQUIMICO ANAEROBICO DE LA TIROSINA SENSIBILIZADO POR LA RIBOFLAVINA. (Photochemical behaviour of tyrosine sensitized by riboflavin). Fürst S., Silva E., Edwards A.M., Becker M. y De loannes A. *Facultad de Química y *Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La irradiación anaeróbica de una solución del aminoácido tirosina (Tyr) sensibilizada por la vitamina riboflavina (Rb) produce una fuerte fotodescomposición de este compuesto que se puede visualizar por la disminución de la banda de emisión fluorescente a los 310 nm y la consiguiente aparición de una nueva banda de emisión fluorescente a los 410 nm. Cuando las soluciones irradiadas son aplicadas en una columna de exclusión molecular de Sephadex G-15, se observa la aparición de dos fracciones, que poseen volúmenes de elución menores que la Tyr. La primera de estas tiene características tanto del aminoácido como de la flavina, y en base a sus propiedades espectrales se trataría de una forma agregada de la flavina que podría estar o no asociada a un producto proveniente del aminoácido. La segunda fracción posee características aminoácidas y emite a los 410 nm cuando es excitada a los 320 nm. Esta segunda fracción se mostró bastante pura cuando fue analizada en una columna de fase reversa C-18 de HPLC y fue identificada como bi-tirosina de acuerdo a su espectro de ¹H-NMR. La propiedad de emitir a los 410 nm es también una característica de este dímero de la Tyr. Debido a que existían antecedentes bibliográficos que asociaban efectos citotóxicos de medios de cultivo expuestos a la luz visible con los productos de la fotooxidación de la Tyr sensibilizada por la Rb, nos pareció interesante probar la citotoxicidad de estas soluciones. Para estos efectos se recurrió a cultivos de células de NSO/2, los cuales se mostraron afectados por la presencia de soluciones de Tyr y Rb previamente irradiados tanto en atmósfera de N₂ como de O₂.

(Financiado por Proyecto Fondecyt 1930571).

CITOTOXICIDAD SOBRE CELULAS TUMORALES HUMANAS HL-60 DE SOLUCIONES IRRADIADAS DE TRIPTOFANO Y RIBOFLAVINA. (Cytotoxicity on human tumoral HL-60 cells of irradiated tryptophan and riboflavin solutions). A.M. Edwards¹, F. Barredo², E. Silva³, De loannes, A.⁴ y M.J. Becker⁵. Depto. de Qca. Biológica¹, Fac. de Química y Unidad de Inmunología², Fac. de Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En nuestro laboratorio hemos demostrado que al irradiar con luz visible soluciones que contienen simultáneamente triptófano (Trp) y riboflavina (Rb) se obtienen fotoproductos tales como aductos Trp-Rb, (Trp-Trp)_n, (Rb-Rb)_n y (Trp-Trp)_n-Rb; los cuales son hepatotóxicos y también producen citotoxicidad sobre células de teratocarcinoma-F9 y mieloides NSO/2 de ratón y sobre embriones preimplantacionales de ratón. En este trabajo se estudia el efecto de estos fotoproductos sobre células tumorales humanas HL-60. Células HL-60 (2x10⁵ células/ml) en medio Dulbecco fueron sembradas en botellas de cultivo y se les adicionó soluciones de Trp y Rb, sin irradiar y previamente irradiadas con luz visible. El efecto de estas soluciones fue observado directamente en la botella de cultivo por microscopía de luz después de 24 h de incubación. Posteriormente los cultivos fueron fijados por las técnicas habituales para microscopía electrónica y paralelamente se hicieron cortes semi finos para microscopía de luz. En las células sometidas a la solución Trp-Rb (+) (irradiadas) se observó un drástico efecto citotóxico. La observación directa mostró un gran número de células citolizadas. En cortes semi finos se observó núcleos hipertrofeados o ausentes y numerosas vesículas citoplasmáticas. Al microscopio electrónico de transmisión se aprecian numerosas vesículas electrón densas en las células en degeneración y también abundantes células cargadas de organelos.

(Financiado por Proyecto FONDECYT 1930571).#

METABOLIZACION DE CLOROFENOLOS POR *Alcaligenes eutrophus* JMP134 (pJP4). (Metabolism of chlorophenols by *Alcaligenes eutrophus* JMP134 (pJP4)). Matus, V. y González, B. Depto. Biol. Cel. Molec. Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Los clorofenoles (CFs) y cloroguaiacoles (CGs) son contaminantes producidos por la actividad industrial del hombre. Hemos reportado previamente que bacterias que degradan guaiacol son capaces de metabolizar CGs de bajo grado de halogenación (González y cols, Appl. Environ. Microbiol., en prensa). Recientemente, hemos extendido el estudio de la degradación de clorofenoles a *A. eutrophus* JMP134 (pJP4), una bacteria dehalogenante descrita previamente (Don & Pemberton, J. Bact., 145:681, 1981). Esta cepa es capaz de crecer en los ácidos 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y 3-clorobenzoico (3-CBA) por la presencia de pJP4, y crece en fenol mediante una vía cromosomal.

Los resultados de este estudio fueron los siguientes: i) la cepa no creció en guaiacol o CGs; creció en 4-CF y 2,4-DCF, pero no en 2,4,5- o 2,4,6-DCF o PCP; ii) células precrecidas en 2,4-D o 3-CBA declararon extensivamente 4-CG, 4,6-DCG, 4-CF y 2,4-DCF y, en menor grado, 5-CG y 6-CG; iii) los compuestos declarados por las células precrecidas fueron también los que produjeron el mayor consumo de oxígeno; iv) la espectroscopia UV demostró que la metabolización de dichos compuestos procedió, al menos, hasta la ruptura del anillo aromático; v) la capacidad para metabolizar CGs dependió de la concentración del organoclorado y de la masa celular activa; vi) los compuestos clorados no inhibieron el crecimiento en 2,4-D o 3-CBA, con excepción de dos clorocatecoles: 4-CC y 4,5-DCC.

Este estudio demuestra por primera vez el potencial para degradar clorofenoles y cloroguaiacoles en *A. eutrophus* JMP134 (pJP4), probablemente a través de procesos cometabólicos.

Financiamiento: IFS F 1886-1 y FONDECYT 0558-93.

EFFECTO TOXICO DE FOTOPRODUCTOS DE TRIPTOFANO SENSIBILIZADOS POR LA VITAMINA B₂: DESARROLLO DE ANTICUERPOS MONOCLONALES (Toxic effect of photoproducts of tryptophan sensitized by vitamin B₂: development of monoclonal antibodies). Díaz, M.¹, Silva, E.², De loannes, A.³, Jamett, A.⁴ y Becker, M.⁵. Depto. de Qca. Biológica¹, Fac. de Química y Unidad de Inmunología², Fac. de Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile y BIOS CHILE I.G.S.A.³.

El aminoácido triptófano (Trp) y la vitamina riboflavina (Rb) son esenciales y deben ser ingeridos diariamente en la dieta. En nuestro laboratorio, se ha descubierto la formación de uniones fotoinducidas entre este aminoácido indólico y la Rb, que han permitido explicar la hepatotoxicidad generada en pacientes sometidos a alimentación parenteral, así como también la citotoxicidad de medios de cultivo expuestos a la acción de la luz visible. También hay evidencia que la formación de estos aductos podría contribuir al envejecimiento del lente ocular y a la cataratogénesis. En este trabajo se contempló la obtención de anticuerpos monoclonales anti-aductos indol-flavina para disponer de una herramienta de detección y purificación de este compuesto en cualquier sistema biológico o químico. Para ello se generó fotoquímicamente la unión de Rb a residuos de Trp de BSA (albúmina de suero bovino) [BSA-Rb] y a Trp enlazados químicamente a BSA [BSA-Trp-Rb]. Luego de inmunizar ratones Balb/c con ambas proteínas y realizar fusiones somáticas con los respectivos bazos, se tienen hibridomas que sólo reconocen BSA-Rb y BSA-Trp-Rb y no BSA. Resultados preliminares muestran que el hibridoma 5A8 reconoce un hapteno en cristalino de rata. Actualmente se encuentran en desarrollo columnas de afinidad con los anticuerpos monoclonales que nos permitan purificar el hapteno fotoquímico indol-flavínico.

Financiado por Proyectos FONDECYT 389/89 y 2930030 y Beca de Doctorado#.

ROL ADHESIVO DE PROTEOGLICANOS DE CONDRITIN SULFATO EN PROGENITORES HEMATOPOYETICOS. (Adhesive properties of chondroitin sulfate proteoglycans in hemopoietic cells). Conget, P. y Minguel, J.J. Unidad de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile.

Entre las múltiples funciones asignadas a proteoglicanos de membrana se encuentra la de participar en procesos adhesivos. Esta función ha sido también, propuesta para un proteoglicano de condroitín sulfato presente en la membrana (maPG-CS) de células progenitoras hematopoyéticas (CPH). En busca de mayores evidencias para sustentar el rol adhesivo de maPG-CS en la interacción CPH-estroma, estudiamos la capacidad adhesiva de dos líneas celulares con características de CPH, que presentan distinto grado de diferenciación: FDCP-mix (multipotente) y FDCP-1 (bipotente) y distinta abundancia de maPG-CS. Se midió la adhesión de células marcadas con ⁵¹Cr a Fn intacta y a sus fragmentos quimiotripticos de 120 ó 40 kd (sitios de unión celular-RGD y de unión a heparina, respectivamente). Ambas líneas celulares se unieron a Fn y al fragmento 120 Kd en un 80%; sin embargo, la unión al fragmento 40 Kd fue de un 60% y un 30%, directamente relacionado con la abundancia de maPG-CS (dos veces más abundante en FDCP-mix que en FDCP-1). Evidencias adicionales que interacción de CPH con el dominio de unión a heparina (40 Kd) es mediada por maPG-CS, se obtuvieron al evaluar la capacidad adhesiva de CPH tratadas con un B-D-Xilósido o con Condroitinasa ABC. Estos tratamientos redujeron la abundancia del maPG-CS, a juzgar por estudios de radiomarcación y análisis por filtración molecular (Sephacrose CL-6B) e inmunofluorescencia. Para ambos tratamientos, la adhesividad al fragmento 40 Kd de las células tratadas se redujo en un 25 y en un 50% respecto de las no tratadas. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la adhesión al dominio de unión a heparina depende de la abundancia de maPG-CS. Estas evidencias permiten concluir que los PG-CS presentes en la membrana de las CPH participan en interacciones adhesivas con la Fn pericelular del estroma, vía el dominio de unión a heparina. Así, maPG-CS contribuirían a estabilizar la adhesión de las CPH al estroma de la médula ósea o a su migración en el microambiente hematopoyético, previo a la liberación de células maduras a la circulación.

Financiamiento: Proyectos Fondecyt (1071-92) y Fundación Andes (C-11894).

ANÁLISIS DE GENES DE LA REGIÓN VARIABLE DE CADENA PESADA DE INMUNOGLOBULINA (VH Ig) EN LEUCEMIAS LINFÁTICAS CRÓNICAS DE ORIGEN B. (Molecular analysis of VH Ig genes in B-CLL). Bertin, P., Marti, G. Depto. de Hematología/Oncología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. *CBER, FDA, NIH, Bethesda, Maryland, USA. (Patrocinio: C. Koenig)

La región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina se forma por el reordenamiento de los segmentos V, D y J localizados en el cromosoma 14q32. En este trabajo hemos usado PCR y análisis de secuencias de nucleótidos de productos de PCR para identificar y caracterizar los genes VH, D y JH de cuatro líneas celulares; dos de ellas derivadas de pacientes con leucemia linfática crónica (LLC) y dos de pacientes con leucemia proliferativa crónica (LPC), todas ellas de origen B y obtenidas mediante transformación por virus de Epstein Barr. Las cuatro utilizan genes de la familia VH3. Solo una de las líneas corresponde a la línea germinal de un gen VH3 ya descrito, las otras tres tienen 95% a 86% de homología con genes descritos. Este hallazgo puede ser explicado por mutación somática y contradice la idea aceptada actualmente que la utilización de genes VH en LLC es sólo en línea germinal. En estas líneas celulares los genes D utilizados son DXP1, DIR y D21/9. Tres han reordenado el gen JH4 y una el gen JH6, todas tienen un número variable de nucleótidos N insertados. En la formación de la región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina de estas líneas celulares malignas de origen B no parece haber uso preferencial de algún miembro de la familia VH3 o de genes D, pero sugiere uso preferencial del gen JH4. Estos resultados sugieren que la utilización de genes VH en estas líneas celulares leucémicas no es siempre en línea germinal y que puede ocurrir mutación somática en las leucemias linfáticas crónicas de origen B.

EVIDENCIAS DE UN CLÚSTER DE DIFERENCIACIÓN BIOLÓGICA EN LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA (LLA) EN CHILE. (Evidence for a differentiation cluster in acute lymphoblastic leukemia in Chile).

Andrade, W., Cabrera, M.E., Leques, M.E., Campbell, M., Risueño, C., Barrica, F. Centro de Investigaciones Médicas* y Departamento de Hematología-Oncología**, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile, Laboratorio de Hematología, Hospital Salvador***; Departamento de Hematología, Hospital Roberto del Río* (Patrocinio: M. Dabiké)

Hemos determinado el estadio de diferenciación celular en 30 muestras no seleccionadas de LLA de estirpe B en niños chilenos utilizando técnicas de inmunofenotipo con anticuerpos monoclonales específicos (CD19, CD10, CD7, CD33) y reordenamiento clonal de genes de cadena pesada (IgH) y ligera (Igk) κ y λ de inmunoglobulinas, utilizando la técnica de Southern blot con sondas específicas de DNA (JH, Ck, Clambda). La mayoría (61%) de los pacientes se diagnosticaron entre los 2 y 6 años de edad, y se demostró la heterogeneidad cariotípica esperable en esta población (X Cariotipos diploides, 1 hipodiploide, 4 hiperdiploides, 1t (4,11)). 29 de 30 casos expresaron el antígeno común de la LLA (CALLA, CD10). 29 de 30 casos mostraron reordenamientos de IgH y en 10 casos se encontraron evidencias de oligoclonalidad en el patrón de bandas reordenadas. Por contraste, apenas 4 (11%) presentaron reordenamiento clonal de Igk κ , un evento de diferenciación común en la LLA de estirpe B CALLA+ (30 a 60%). Esto indica que la mayoría de las LLA en la muestra estudiada detuvieron su diferenciación posterior al reordenamiento de IgH, incluso los casos, esperables en número, de LLA oligoclonal. Este hecho es evidencia de un fenómeno de cluster local con consecuencias etiopatogénicas desconocidas. La evaluación en el tiempo de los pacientes demostrará si este fenómeno tiene a su vez un impacto clínico adverso o favorable.

Financiado por Fondecyt 747-92

DEGRADACIÓN DE ARILGLUCOSÍDOS POR UN CONSORCIO BACTERIANO. (Arylglycoside degradation by a bacterial consortium). Céspedes, R. y Vicuña, R. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Los arilglucosidos, que han sido descritos como intermediarios en la síntesis de lignina en plantas vasculares, son también formados en reacciones de transglucosidación por hongos creciendo en cultivos conteniendo celobiosas y compuestos fenólicos derivados de lignina, como alcohol vanilílico y ácidos ferúlico y p-cumárico. La degradación de glucosidos ha sido poco estudiada. Se sabe que en el rumen la presencia de fenilglucosidos retarda la degradación de la pared de células vegetales, debido a que los ácidos fenólicos liberados inhiben el crecimiento de varias especies de bacterias ruminales. En este trabajo se describe la caracterización de un consorcio bacteriano aislado de muestras de madera en descomposición, en base a su capacidad de crecer y degradar completamente el dímero vanilil- β -D-glucopiranosido. Este consorcio está constituido por tres cepas identificadas preliminarmente como *Serratia* sp. (cepa 2.1) y *Pseudomonas* sp. (cepas 2.2 y 2.3). El consumo completo del dímero requiere la presencia de dos de las cepas (2.1 y 2.2), siendo la cepa 2.1 la única capaz de romper el dímero. La degradación continúa con la oxidación del alcohol vanilílico al ácido respectivo por la cepa 2.2, el cual es empleado como sustrato por las dos cepas de *Pseudomonas*. La cepa 2.1 también puede crecer en los fenilglucosidos salicílico y arbutina, acumulando salicil alcohol e hidroquinona, respectivamente. Un co-cultivo de las cepas 2.1 y 2.2 produce un consumo parcial del salicil alcohol pero no de la hidroquinona. Estudios de inhibición de la liberación de p-nitrofenol a partir de PNPG por células de la cepa 2.1, han mostrado que la hidrólisis del vanililglucosido así como los fenilglucosidos puede estar mediada por una actividad β glucosidasa presente en la bacteria.

Este trabajo fue financiado por FONDECYT 0758/91.

EL LECHO DE LA ESTRIA TERMINAL COMO MODELO PARA ESTUDIAR LA LIBERACIÓN DE NORADRENALINA EN EL SNC. (The bed nucleus of stria terminalis as a model to study noradrenaline release in the CNS). Gysling, K., Forray, M.I., Andrés, M.E. y Bustos, G. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La región ventral del lecho de la estria terminal (LET) es la región del SNC con la mayor concentración de noradrenalina (NA), la cual se encuentra exclusivamente en terminales neuronales. Estas características hacen del LET un modelo apropiado para estudiar la liberación de NA endógena. El objetivo de este trabajo es estudiar la regulación de la liberación de NA por receptores adrenérgicos y glutamatérgicos del tipo N-metil-D-aspartato (NMDA). Los experimentos se realizaron en minicortes de LET ventral superfundidos con Krebs-Ringer-fosfato. La NA liberada se cuantificó mediante HPLC-EC previa concentración en alúmina.

La liberación de NA inducida por concentraciones altas de K^+ y dependiente de Ca^{2+} es inhibida por clonidina, agonista adrenérgico α_2 , y estimulada por yohimbina, antagonista adrenérgico α_2 . La adición de NMDA (250 μ M) al medio de superfusión, en ausencia de Mg^{2+} , aumenta significativamente el flujo basal de este neurotransmisor. Glicina (1 μ M) y D-serina (10 μ M), aumentan significativamente la liberación de NA inducida por NMDA. La liberación de NA inducida por K^+ no se modifica por la presencia de NMDA en el medio de superfusión.

Los resultados de este trabajo indican que la liberación de NA en el LET es regulada por autorreceptores del tipo α_2 y por heteroreceptores glutamatérgicos del tipo NMDA. Además sugieren posibles interacciones entre los mecanismos presinápticos de modulación de la liberación de NA.

Financiado por proyecto FONDECYT 686/93.

CAMBIOS EN LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN CELULAS DE RAICES DE *Allium cepa* L. INDUCIDOS POR HIPOMETILACIÓN DEL DNA. (Protein synthesis changes induced by DNA hypomethylation). Ferrada, D. y Sans, J. Depto. Biol. Cel. y Gen. Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

La metilación del DNA es uno de los mecanismos de control de la expresión génica. La administración *in vivo* de 5-azacitidina (5-azaC), análogo de la citidina, disminuye el contenido de 5mC en el DNA e induce la expresión de determinados genes.

Utilizando células de la región meristemática y madura de la raíz de *A. cepa* L. y con el fin de detectar genes cuya expresión este controlada por el grado de metilación de su DNA, se estudió la inducción de cambios en la expresión génica, a través del análisis de variaciones en el patrón electroforético de proteínas totales, después de un tratamiento con 5-azaC, que produce una desmetilación de alrededor del 30 % de los residuos de 5m-citosina del DNA.

Los resultados muestran que el análogo provoca cambios en el patrón polipeptídico tanto en la zona meristemática como madura de la raíz. En el primer caso hemos visto que el análogo induce un ligero aumento en algunos polipéptidos y una leve disminución en otros. En cambio en la zona madura, se produce un incremento más importante de algunos polipéptidos. El análisis de la síntesis de los polipéptidos por incorporación de metionina ³⁵S, en ambas zonas de la raíz, muestra que existe una correlación entre el incremento observado y la síntesis de estos polipéptidos.

Los resultados sugieren que por su acción hipometilante del DNA, 5-azaC estaría estimulando la expresión de los genes que codifican para aquellos polipéptidos cuya presencia se ve incrementada. En cambio, en el caso de aquellos polipéptidos que se ven disminuidos, podría ser reflejo de la activación de genes cuyos productos actuarían como represores de los genes que codifican a dichos polipéptidos.

Proyecto FONDECYT 92/982.

EVIDENCIAS QUE SUGIEREN QUE EL INICIO DE LA MITOSIS ES CONTROLADO NEGATIVAMENTE POR UN GEN QUE SE EXPRESA EN G₁. (Evidences suggest G₁ gene expression involve in negative control of G₂ to M transition). Concha, M. y Sans, J. Depto. de Biol. Cel. y Genet. Fac. Med. U. de Chile. * Prog. Doctorado, Fac. Med., U. de Ch.

Se ha demostrado en células eucarióticas que el inicio de la mitosis es regulado por señales positivas y negativas que actúan estimulando o inhibiendo este proceso, respectivamente.

En experimentos previos hemos demostrado que la administración *in vivo* de 5-azacitidina (5-azaC) en *Allium cepa* L. estimula la expresión de genes particulares a través de su efecto hipometilante del DNA.

En este trabajo se estudió citológicamente el efecto de 5-azaC 10⁻⁶M sobre la expresión de genes vinculados con la regulación del inicio de la mitosis, en una población de células meristemáticas sincrónicas de *Allium cepa* L. marcadas como binucleadas mediante un tratamiento con cafeína 5mM.

Los resultados muestran que la administración de 5-azaC durante todo un período replicativo no altera el inicio de la mitosis inmediata. Sin embargo, las células que surgen de esta división comienzan un nuevo ciclo celular, inician la replicación del DNA, pero se ven impedidas de iniciar una nueva mitosis quedando bloqueadas en el período G₂. Resultados similares se obtuvieron cuando el tratamiento con 5-azaC se efectuó por un tiempo equivalente al primer ó segundo tercio del período S. Este fenómeno no se observó cuando el tratamiento involucró sólo al último tercio.

Los resultados sugieren que: La entrada en mitosis estaría regulada negativamente por un gen cuya expresión dependería del grado de metilación del DNA; Este gen estaría codificado en un sector del genoma que replica probablemente entre el final del primer tercio y comienzo del segundo tercio del período S; Este gen se transcribiría durante el período G₁, y su producto final ejercería su acción en la transición G₂-M. Proyectos Fondecyt 92/982.

ANÁLISIS ELECTROFORÉTICO DE PROTEÍNAS ESPERMÁTICAS Y FLUIDO EPIDIDIMARIO DE POTRO. (Electrophoretic analysis of stallion epididymal sperm and fluid proteins)

Lorca, C.; Retamal, C.; Urzúa, J.; López, M.L. Dto Biología Cel. y Gen. Serv. Fisiopatología *. Fac. Medicina. U. Chile.

La adquisición de la motilidad y capacidad fecundante del espermatozoide se acompaña de modificaciones en la morfología, organización molecular y actividad metabólica del gameto. Entre otras, se han descrito diferencias en las cargas de superficie, en la antigenicidad de membrana, en el contenido proteico y lipídico, que son de importancia en la comprensión de los factores que influyen en estos procesos. Con el objeto de detectar y caracterizar alguna(s) proteína(s) o glicoproteína(s) de superficie que se adicione(n), pierda(n) o modifique(n) durante el proceso de maduración espermática, se analizaron los perfiles electroforéticos de proteínas de espermatozoides y de fluido obtenidos de los diversos segmentos de epidídimo. Se utilizaron parámetros tales como motilidad, localización de gota citoplasmática, y otros para determinar el grado de "madurez" de espermatozoides en las regiones de cabeza, cuerpo y cola epididimaria. Nuestros resultados muestran que espermatozoides y fluido epididimario obtenidos de las diferentes regiones de la vía seminal presentan patrones electroforéticos distintos. Se observaron proteínas de PM 14000, 66000, 70000 que aparecen o aumentan su concentración en espermatozoides de las regiones más distales de epidídimo. En fluido epididimario, estas bandas disminuyen en la región de la cola epididimaria, excepto la de 70 Kd que aumenta. Una proteína de 24 Kd, presente en espermios obtenidos de conducto eferente, disminuye en las regiones distales de la vía seminal. Esta no se observó en el fluido de eferente, y aparece en las muestras obtenidas de cuerpo y cola epididimaria. No se detectaron diferencias significativas en las muestras de los diferentes animales estudiados. Se discute la acción de estas proteínas y glicoproteínas en el proceso de maduración espermática. (DTI.3377-9212)

EL RECEPTOR DE EGF EN LA IMPLANTACIÓN *in vitro* DEL BLASTOCISTO DE RATÓN (The EGF-R in *in vitro* implantation of mouse blastocyst). Mancilla, A., Faúndez, V., Izquierdo, L., González, A. Depto. Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Depto. Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.

Existen evidencias que sugieren un rol del factor de crecimiento epidérmico (EGF) en la diferenciación del trofoblasto humano. En ratón, el proceso de implantación y diferenciación tiene características distintas que pueden ser analizadas con respecto a los efectos del EGF en un sistema *in vitro*. Los blastocistos de ratón cultivados "in vitro" en un medio con suero se despojan de la zona pelúcida, se adhieren al sustrato y el trofoblasto se extiende y poliploidiza, procesos que remedan la implantación *in utero*.

En los embriones cultivados durante 3 días con suero y EGF se observó un cambio morfológico caracterizado por núcleos muy prominentes en las células gigantes del trofoblasto. Este efecto es específico, ya que fue inhibido por un anticuerpo anti-EGF. Además, en los embriones implantados se detectó el receptor de EGF (R-EGF) mediante experimentos de "cross-linking" y unión de radioligando. Ensayos de fosforilación e inmunoprecipitación con anticuerpos antifosfotirosina mostraron fosforilación del R-EGF inducida por su ligando, indicando que el receptor estaría activo en esta etapa del desarrollo. La actividad tirosina quinasas del receptor parece afectarse por el estado de diferenciación del trofoblasto, ya que disminuye cuando la implantación es inhibida experimentalmente. Los resultados sugieren que las reacciones de fosforilación en tirosina mediadas por el R-EGF podrían ser importantes en la diferenciación del trofoblasto de ratón.

(Financiado por los proyectos FONDECYT 0838-91 y 1930596, y por el Dpto. Postgrado y Postítulo, U. de Chile, Beca PG-089-93).

ESTABLECIMIENTO DEL PRIMER EPITELIO EN EL EMBRION DE RATON. (Establishment of the first epithelium in the mouse embryo). Pey, R.* & Izquierdo, L. Dept. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Uvomorulina es una glicoproteína de adhesión celular dependiente de calcio que en células MDCK y en fibroblastos induce polarización estableciéndose un epitelio.

En el embrión de ratón, al estado de 8 células y durante el proceso morfogénico de compactación, uvomorulina se regionaliza en los contactos celulares al igual que fodrina, mientras que actina permanece homogéneamente distribuida en el córtex. Es el comienzo de la determinación del trofoblasto.

La compactación es imprescindible para la blastulación. Cuando el embrión cavita, las células externas se diferencian y se establece el primer epitelio. En este estado se pierde la colocalización completa de uvomorulina (se observa sólo en los contactos celulares, pero excluida de las caras apical y basal) y fodrina (se observa en los contactos celulares y además en la cara basal, pero excluida de la cara apical) en las células trofoblásticas mientras que se conserva en las de la masa celular interna que aun no están diferenciadas; además, no se observan diferencias en la distribución de actina entre esos dos tipos celulares.

Financiado por U. de Chile y FONDECYT Proyectos 90-0002 y 0838-91.

* R. P. fue becario de P. U. Católica de Chile, grant RF 88077-B.

ONTOGENIA DE LA ACETILCOLINESTERASA EN *Concholepas concholepas* (Acetylcholinesterase ontogeny in *Concholepas concholepas*). Campos E.O., Rodríguez S. e Inestrosa N.C. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

La acetilcolinesterasa (AChE) es la enzima que degrada a la acetilcolina en la sinapsis colinérgica. Hemos estudiado esta enzima durante el desarrollo del muricido *C. concholepas*, etapa larval, metamorfosis, estado juvenil y finalmente estado adulto. Para ello se han analizado tanto la AChE como la butirilcolinesterasa (BuChE) en geles de poliacrilamida no-denaturantes y gradientes de sacarosa.

Nuestros resultados indican que durante el desarrollo de este molusco la actividad de la AChE aumenta 2000 veces desde huevo a juvenil; que existe una relación inversa entre las actividades de la AChE y de la BuChE (0,3 en huevos a 2,5 en reclutas); que de la BuChE existen en el comienzo del desarrollo las formas G2 y G4 y luego solo permanece en el juvenil la forma G2; que de la AChE en un comienzo está presente sólo la forma molecular G2 y posteriormente aparece una segunda forma (G4) la que es inducida luego de la metamorfosis, patrón que se mantiene en juveniles.

Estos resultados han permitido establecer el patrón de la ontogenia de la AChE en *C. concholepas*, incluyendo el hallazgo de cambios significativos en la actividad, en las razones AChE/BuChE y en las formas moleculares de la enzima.

LA ACETILCOLINESTERASA DE CEREBRO DE MAMIFERO: ESTUDIOS ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL (Mammalian brain acetylcholinesterase: structural and functional studies). *Moreno R.D. e Inestrosa N.C. Depto. Biología Celular y Molecular, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La acetilcolinesterasa (AChE) es la enzima que hidroliza al neurotransmisor acetilcolina. En el sistema nervioso central de los mamíferos la enzima es un oligómero de 4 subunidades catalíticas al que se asocia en forma covalente un polipéptido hidrofóbico de 20 kDa. Durante el desarrollo embrionario se ha detectado la presencia de un monómero con parámetros cinéticos distintos a los establecidos para la enzima adulta. Estamos interesados por lo tanto, en estudiar aspectos estructurales y funcionales de la AChE durante el desarrollo de mamíferos. Para ello se analizará su expresión y ensamblaje durante el desarrollo *in vivo* e *in vitro* utilizando cultivos primarios de neuronas y la expresión de mRNAs de origen cerebral en oocitos de *X. laevis*. Asimismo, se realizará un estudio de los parámetros cinéticos de cada una de las formas moleculares de la AChE involucradas en la biosíntesis de la forma tetramérica, frente a distintos tipos de inhibidores. Hemos comenzado estos estudios identificando el dominio de interacción de la AChE con la membrana plasmática. En esta presentación se discutirán los experimentos preliminares sobre la interacción de la AChE con liposomas de distinta composición y el comportamiento que presenta la enzima frente a distintos tipos de inhibidores.

Financiado por FONDECYT 0651/91. *Becario CONICYT.

PRESENCIA DE LA ACTIVIDAD ACETIL CoA HIDROLASA EN PEROXISOMAS DE HIGADO DE RATA. (The presence of acetyl CoA hydrolase activity in rat liver peroxisomes). Herrera, R. y Leighton, E. Lab. de Citología Bioquímica y Lípidos, P. Universidad Católica de Chile.

En mamíferos la enzima responsable de la generación de acetato a partir de acetil CoA es la acetil CoA hidrolasa, descrita en mitocondria y en citosol. En este trabajo informamos la presencia de la actividad acetil CoA hidrolasa en peroxisoma de hígado de rata.

La localización de esta enzima en peroxisoma se basa en la distribución de la actividad después del fraccionamiento subcelular del homogeneizado de hígado de rata. Los resultados confirman que esta actividad se encuentra presente en mitocondria y en la fracción citosólica. La acetil CoA hidrolasa mostró ser sensible a nucleótidos, siendo las enzimas peroxisomal y citosólica activadas por ATP y la hidrolasa mitocondrial inhibida.

Ciprofibrato, un proliferador peroxisomal, indujo la actividad hidrolasa cuatro veces. Este efecto se observó en homogeneizados de hígado, en la fracción rica en peroxisomas y en peroxisomas purificados por gradientes de densidad. En el grupo de ratas alimentadas con la droga, la actividad acetil CoA hidrolasa citosólica se encuentra aumentada con respecto al grupo control.

Al medir la actividad hidrolasa en los homogeneizados de hígado de rata control a 4°C y a 20°C, en presencia de ATP, se encontró que la actividad es mayor a 20°C. En ratas tratadas con ciprofibrato no se observó cambio en la actividad de esta enzima a esas temperaturas.

En este estudio se presentan resultados que sugieren que la acetil CoA hidrolasa que hemos detectado en peroxisomas es una enzima inducible y que presenta características similares a la citosólica en su respuesta a ATP y termo sensibilidad.

(Financ. Fondecyt 017/93 y Juvenile Diabetes Foundation International)

EVALUACION DE NOVEDOSOS FACTORES DE RIESGO ATEROGENICO EN HOMBRES CON DIAGNOSIS ANGIOGRAFICA Y COLESTEROL PLASMATICO MENOR DE 240 mg/dl. (Evaluation of novel atherogenesis risk factors in men with angiographic diagnosis and less than 240 mg/dl plasma cholesterol). Leighton, F., Arteaga, A., Guasch, V., Catalán, L., Martínez, A., Pollak, F., Acosta, A.M., Miquel, A., Rojas, L., Castro, C., Solís de Ovando, F., Barriga, C. Lab. Citología Bioquímica y Lípidos, Fac. Ciencias Biológicas, Lab. Nutrición y Lab. Cardiología, Fac. Medicina, Universidad Católica de Chile.

De 1836 sujetos sometidos a angiografía coronaria, se seleccionaron 81: hombres, no diabéticos, sin enfermedades agudas o crónicas, sin tratamiento con drogas ni cambios recientes en el estilo de vida, con edad entre 35-65 años y colesterol total en el plasma menor de 240 mg/dl. El grado de aterosclerosis coronaria fue cuantificado según Gensini. Lesiones coronarias se encontraron en 50 de los 81 sujetos. Se realizaron 95 mediciones, incluyendo factores de riesgos conocidos, presuntivos y posibles. La evaluación estadística de los datos incluyó análisis univariado y regresión logística stepwise. Los dos grupos no mostraron diferencias en edad, índice de masa corporal, presión sanguínea y hábitos de fumar. Tampoco hubo diferencias en los niveles plasmáticos de insulina, triglicéridos, colesterol LDL y total, apo A1, apo B, Lp(a), y CETA. En el grupo de arteroesclerosis; colesterol HDL fue más bajo, 33.7 vs 39.7 mg/dl ($p=0.013$); la razón colesterol total/HDL fue más alta, 6.41 vs 5.27 ($p=0.005$); la razón apoB/apoA1 más alta, 1.0 vs 0.87. Se realizó la evaluación de otros posibles factores de riesgo como ácidos grasos de plasma y RBC, DMA de plasmalógenos, antioxidantes liposolubles e hidrosolubles, grupos SH, ceruloplasmina, fierro plasmático, capacidad de unir fierro en el plasma y ferritina. Las diferencias estadísticas más notables observadas en el grupo con arteroesclerosis coronaria fueron: HDL disminuida, capacidad para unir fierro en el plasma aumentada, más 16:1w7 en plasma, menos 18:1w9 en el plasma, razón plasmática 18:1w9/18:1w7 disminuida (descrito en la inhibición de la delta-9 desaturasa en ratas), 22:5w3 del plasma disminuido, y 18:3w6 de glóbulo rojo aumentado. Estos resultados confirman, para este grupo de hombres, el rol "protectivo" de colesterol-HDL y sugiere un rol para la delta-9 desaturasa, no así para fierro plasmático en aterogénesis. (Financ. Fondecyt 732/91 y 98/92).

MECANISMO DE INHIBICION DE PROTEINA QUINASA C POR PALMITOIL-CARNITINA. (Mechanism of Protein Kinase C inhibition by palmitoyl-carnitine) Hidalgo, P., Cárdenas, L., Morales, M.N., y Bronfman, M. Departamento de Biología Celular y Molecular, Fac. de Ciencias. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La proteína quinasa C (pK) es el protagonista de una de las vías de transducción de señales celulares, que es modulada por el ion calcio, fosfolípidos (fosfatidilserina) y diacilglicerol. La activación de la enzima está, aparentemente, ligada a su translocación desde el citosol a la membrana. En nuestro laboratorio hemos descubierto otras moléculas moduladoras de la actividad de la pK, los acil-Coenzimas A (acil-CoA) de ácidos grasos de cadena larga los cuales, potencian a la pK. Hemos también demostrado que los derivados-CoA de diversos carcinógenos no genotóxicos, que se forman tanto *in vitro* como *in vivo*, potencian a la pK de la misma manera que sus análogos naturales. El mecanismo de activación está basado en una disminución de los requerimientos de la enzima por fosfatidilserina, inducida por acil-CoAs. Por otra parte, la pK es inhibida por palmitoil-carnitina, uno de los intermediarios metabólicos que, en la célula, se encuentran en equilibrio con los acil-CoAs mediante la acción de las acil-CoA carnitina acil-transferasas. En este trabajo se estudió el mecanismo molecular de esta inhibición, así como la importancia del grupo acil de las acil-carnitinas en el efecto inhibitorio. Se encontró que las acil-carnitinas sólo afectan los requerimientos de la pK por fosfatidilserina. Se encontró además, que para que el efecto inhibitorio se manifieste, el grupo acil de la carnitina debe tener una estructura hidrocarbonada lineal. Estos datos complementan los estudios de activación por acil-CoA. Dado que ambos tipos de compuestos existen como intermediarios metabólicos podrían participar en la regulación normal de la pK *in vivo* (Financiado: Proyecto Fondecyt 800-92).

HIDROLASA DE ESTERES DEL COENZIMO A CON CARCINOGENOS NO GENOTOXICOS. DISTRIBUCION SUBCELULAR EN ESPECIES QUE RESPONDEN A PROLIFERACION PEROXISOMAL Y QUE NO LO HACEN. (Hydrolase activity on non genotoxic carcinogens acyl-coenzyme A esters. Subcellular distribution in peroxisomal proliferation-inducible a non inducible species) Urrea, R., y Bronfman, M. Departamento de Biología Celular y Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Existe una amplia variedad de xenobióticos con actividad carcinogénica no genotóxica que inducen una serie de efectos metabólicos en animales de experimentación, los que incluyen proliferación peroxisomal. Dado que la proliferación peroxisomal inducida por estos compuestos, es un fenómeno especie específico, existe interés en evaluar los efectos de estas drogas en especies en que no hay inducción peroxisomal, entre ellas la humana, con el fin de evaluar el riesgo de exposición a estos xenobióticos que incluyen diversas drogas, plastificantes, agroquímicos y otros contaminantes ambientales. En nuestro laboratorio hemos demostrado que estos compuestos son biotransformados por la célula en tioésteres del coenzima A (acil-CoAs) y hemos postulado que son estos derivados los farmacológicamente activos. Estos xenobióticos-CoA son formados por especies que responden con proliferación peroxisomal (rata) y especies que no responden (cuy, humanos). Dado que los niveles intracelulares de estos compuestos dependen tanto de la velocidad de síntesis como de la velocidad de degradación, en este trabajo hemos investigado la localización subcelular y actividad de la hidrolasa de xenobióticos-CoA utilizando como modelo ciprofibroil-CoA. Se investigó además la actividad y localización subcelular de la enzima en ratas y cuy tratados con la droga, ya que se ha descrito que la enzima, utilizando palmitoil-CoA como sustrato, sería inducible. Los resultados sugieren que la distribución subcelular no cambia radicalmente de una especie a la otra, existiendo en ambas especies un aumento de la actividad en los animales tratados (Financiado: Fondecyt 800/92).

ESTUDIO DE LA BIOSINTESIS Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL SECRETORIO DEL ORGANOSUBCOMISURAL.

(Study of the biosynthesis and processing of the secretory material of the subcommissural organ). Nualart, F., Rodríguez, E.M. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

El órgano subcomisural (OSC) es una glándula cerebral que sintetiza glicoproteínas, las que son liberadas al líquido cefalorraquídeo (LCR) donde se condensan formando una estructura conocida como fibra de Reissner (FR).

Extractos de OSC y FR de bovino están siendo usados para: (i) purificar y caracterizar el material secretorio y sus precursores; (ii) obtener anticuerpos policlonales; (iii) realizar mapas tripticos de FR; purificar y secuenciar algunos péptidos y obtener anticuerpos específicos contra ellos; (iv) estudiar la biosíntesis del material secretorio en explantes de OSC de bovino y en oocitos de *Xenopus laevis* microinyectados con mRNAs purificados de OSC.

El uso de diferentes sueros contra el material secretorio del OSC sugiere la existencia de dos precursores de 540 kDa y 320 kDa. Estas moléculas serían procesadas y liberadas al LCR para formar la FR, la cual estaría constituida al menos por 8 polipéptidos N-glicosilados, siendo el más constante una molécula de Mr aparente de 450 Kda; estos polipéptidos formarían un complejo de mayor Mr, estabilizado a través de puentes disulfuros. Los resultados obtenidos en cultivos de explantes de OSC sugieren que parte del material secretorio permanece soluble en el medio al cual es liberado y este sería diferente al que constituye la FR.

Actualmente se está realizando la extracción y purificación de mRNA de OSC, síntesis in lisado de reticulocitos y síntesis de cDNA.

Financiado por Proyectos Fondecyt 91-0996 y 1930398 y por Dir. Investigación y Desarrollo Proy. 5-92-03 U.A.Ch.

IDENTIFICACION DE UNA GLICOPROTEINA CANALICULAR ASOCIADA AL TRANSPORTADOR VESICULAR DE LIPIDOS BILIARES. (Identification of a canalicular glycoprotein associated to vesicular biliary lipid carrier). Núñez, L., Amigo, L., Rigotti, A., Puglielli, L. y Nervi, F. Depto Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Univ. Católica de Chile.

El colesterol biliar se transporta en micelas mixtas (fosfolípidos, sales biliares) y la mayor parte en forma de vesículas unilamelares de fosfolípidos. Asociadas a las vesículas existen glicoproteínas hidrofóbicas de 62,86, 114 y 130 kDa. Algunas de estas glicoproteínas podrían servir como marcadoras de la ruta de transporte intracelular del precursor vesicular. Resultados previos mediante inmunocitoquímica y western blot indican que el anticuerpo preparado contra la gp 130 kDa da una marcación específica en la membrana canalicular del hepatocito. Por esta razón se identificó la gp 130 mediante secuenciación aminoácidica amino terminal. Se encontró que esta gp corresponde a la enzima leucina aminopeptidasa (LAP), la que se ubica como proteína de membrana en las vesículas. La existencia de esta enzima activa y la presencia de su extremo amino terminal citoplásmico indican que LAP es secretada en forma íntegra hacia la bilis. Estos resultados sugieren que el precursor vesicular de los lípidos biliares se originaría en el interior del hepatocito, llegando a la membrana canalicular se fusionaría a ella y por un proceso de yemación se libera al canalículo biliar llevando consigo a la enzima LAP. (FONDECYT 0633/90)

LOCALIZACION DE PROTEINAS DE MEMBRANA PEROXISOMAL Y LISOSOMAL EN AFECTACIONES GENETICAS HUMANAS DE LA BIOGENESIS PEROXISOMAL (Localization of peroxisomal and lysosomal membrane proteins in human genetic disorders of peroxisome biogenesis) M.E. Kawada y Santos, M.J. Departamento Biología Celular y Molecular, P. Universidad Católica de Chile.

El prototipo de afección genética humana que involucra la biogénesis de los peroxisomas es el Síndrome de Zellweger (SZ). Existe una gran heterogeneidad genética en este síndrome, habiéndose descrito más de 6 grupos de complementación distintos. Nosotros describimos la presencia de fantasmas de membranas peroxisomales ("peroxisomas vacíos") en células SZ de un grupo de complementación. Estos fantasmas no colocalizaban con lisosomas (Santos et al., Science 239:1536, 1988). Ello nos permitió sugerir que en estas células, no ocurría una remoción acelerada de los peroxisomas malformados por el sistema autofagocítico celular. Recientemente, analizando células SZ de un grupo de complementación diferente, se ha sugerido la presencia de un porcentaje significativo de fantasmas peroxisomales en vacuolas autofagocíticas (Heikoop et al., Eur.J.Cell Biol. 57:165, 1992).

Con el fin de evaluar la localización celular de antígenos peroxisomales y lisosomales en células SZ de los distintos grupos de complementación descritos, realizamos doble inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos policlonales contra las proteínas de membrana peroxisomal y anticuerpos monoclonales contra una proteína de membrana lisosomal. Utilizamos segundos anticuerpos marcados con fluoresceína y con Texas-Red. Los resultados muestran que en las distintas células analizadas, en condiciones basales (sin perturbar su autofagocitosis normal), la mayoría de las proteínas de membrana peroxisomal no colocalizan con las proteínas de membrana lisosomal. Financiado parcialmente por FONDECYT 824/92

EFFECTO DE SALES BILIARES DE DIFERENTE HIDROFOBICIDAD SOBRE PROTEINAS DE MEMBRANA EN LA COLESTASIA HEPATOCELULAR. (Effect of bile salts of different hydrophobicity on membrane proteins in hepatocellular cholestasis) Figueroa C., Pizarro M., Solís N. y Accatino L. Depto. Gastroenterología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Amigo L.).

Las sales biliares (SB), dependiendo de su hidrofobicidad, pueden solubilizar proteínas integrales como ectoenzimas, vinculadas a procesos de conservación de solutos, desde la membrana apical del hepatocito; se desconoce si este proceso tiene un rol patogénico en la insuficiencia secretora hepática (colestasia). Se estudió la acción de SB de diferente hidrofobicidad: tauroursodeoxicolato (TUDC) < taurocolato (TC) < tauroquenodeoxicolato (TQDC), sobre la secreción biliar de las ectoenzimas de la membrana canalicular, fosfatasa alcalina (FA) y γ -glutamiltranspeptidasa (GGT), en ratas controles y con colestasia provocada por etinilestradiol. Con la técnica del hígado aislado y perfundido, en ambos grupos de animales se infundieron cantidades crecientes de TUDC, TC y TQDC. La secreción biliar de FA y GGT se correlacionó en forma lineal con la secreción de SB. Sobre esta base, la secreción máxima de FA por nmol de SB excretada en el grupo control para TUDC, TC y TQDC fue: 0.003, 0.02 y 0.09, respectivamente. En el grupo colestásico, estos valores fueron: 0.006, 0.13 y 0.29. Al infundir las mismas SB, los valores para GGT en el grupo control fueron: 0.03, 0.19 y 0.74 y en los tratados: 0.03, 0.8 y 1.17. La secreción biliar de estas enzimas en la colestasia fue mayor con TQDC y TC, respecto al grupo control; en cambio, con TUDC (la SB más hidrofílica utilizada) no hubo diferencias entre ambos grupos. Tanto en controles como en tratadas la mayor excreción por nmol de SB para ambas enzimas se encontró al infundir TQDC, la SB más hidrofóbica. En conclusión, en ratas con colestasia por etinilestradiol hay una mayor labilidad de estas proteínas integrales de la membrana apical del hepatocito a la acción solubilizadora de SB hidrofóbicas como TQDC o TC. En cambio, TUDC que no modifica la excreción biliar de enzimas, tendría un efecto protector en la colestasia hepatocelular. (Proyecto FONDECYT 739/92)

"ESTUDIO DE LAS POLIMERASAS DE *Trypanosoma cruzi* (Study of *Trypanosoma cruzi* DNA polymerases) Vénegas, J y Solari, A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

T. cruzi es el agente etiológico de una de las más importantes enfermedades parasitarias que afectan al continente americano. El estudio de la maquinaria replicativa del parásito podría aportar importantes antecedentes en la búsqueda de nuevos blancos quimioterapéuticos. En este trabajo se presenta la purificación y caracterización bioquímica de tres DNA polimerasas procedentes de la forma proliferativa epimastigote, las cuales se denominaron DNA polimerasas A, B y C. La primera de estas enzimas fue extensamente purificada obteniéndose una preparación de alta actividad específica y que, al ser analizada en geles de poliacrilamida en condiciones denaturantes, presenta bandas de proteínas de peso molecular aproximado 45 000, 32 000 y 30 000. Estudios de sedimentación en gradientes de glicerol, análisis de perfiles electroforéticos y estudios de detección de actividad DNA polimerásica "in situ" mostraron que la DNA polimerasa A correspondería a la banda de 45 000. Para analizar el papel funcional de esta enzima en el parásito y su relación con las otras DNA polimerasas aisladas, se procedió a la obtención de anticuerpos en contra de la DNA polimerasa A. Los resultados de "Western blotting" e inmunoprecipitación apoyan la idea que esta enzima sería una entidad molecular diferente de las otras DNA polimerasas purificadas. Por otro lado, los análisis de "Western blotting" revelan que la DNA polimerasa A también estaría presente en la forma no proliferativa tripomastigote del parásito.

Financiado por DTI (Departamento Técnico de Investigación, U. de Chile) y PRYEC. FONDECYT

CAMBIO EN EL CONTENIDO DE PROTEÍNAS Y LÍPIDOS DURANTE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *A. CAVEN* (MOLL). (A. caven (Moll) seeds: changes in the protein and lipid content during germination). *O'Reilly S., *Palma B., *Erazo S., *Robledo M. y **Meneses P. *Institutos de Química y de Biología, Universidad Católica de Valparaíso, **M.K. Lab., Midwestern University, Chicago. (Patrocinio: Reyes, J.)

Acacia caven o espiño, leguminosa ampliamente distribuida entre los ríos Elqui y Bio-Bio, presenta gran resistencia a la sequía y a la salinidad del suelo, por lo que es potencialmente un elemento reforestador ante el empobrecimiento de la vegetación natural. Es además, un elemento energético y complemento alimenticio para el ganado en poblaciones rurales.

Dada la variedad de ambientes que tolera es importante conocer el desdoblamiento de materiales de reserva durante los primeros días de germinación. Las semillas de *A. caven* fueron recolectadas en la zona de Limache (V Región).

Los resultados, expresados por par de cotiledones, muestran entre los 0 y 7 días de germinación, una disminución del contenido proteico (día 0 = 24,75mgr, día 7 = 10,41mgr), acompañada de un aumento de proteínas solubles. Durante este período disminuye el nitrógeno total (día 0 = 4,73mgr, día = 3,32mgr) y aumenta el nitrógeno no proteico (día 0 = 0,77mgr, día 7 = 1,65mgr). Lo anterior implica hidrólisis proteica y posible movilización de los productos desde los cotiledones al eje en crecimiento. En las semillas dormantes se encuentran los ácidos linoleico 44,6%, oleico 31,0%, esteárico 11,3% y palmítico 13,2%; la distribución al séptimo día es 56,8%, 24,0%, 6,8% y 10% respectivamente. La pérdida de lípidos (día 0 = 7,0mgr, día 7 = 2,1mgr) y el cambio de los porcentajes relativos de los ácidos grasos y de los fosfolípidos muestran una posible degradación, transformación lipídica y/o movilización. Financiado por DGI, UCV.

EDUCACION BIOQUIMICA EN MEDICINA: DESDE UNA QUIMICA BIOLOGICA A UNA BIOLOGIA QUIMICA.-

Dr. A.C.Foradori - Lab. Medicina Nuclear-Centro de Diagnóstico-Fac. de Medicina P.Univ.Católica-Santiago (Chile)

La Bioquímica en su acepción vigente es una Ciencia Reduccionista de alcances muy vastos que requiere una gran capacidad de síntesis cuando se enfrenta a problemas concretos de la Medicina. Por otro lado es muy difícil mantenerse al día salvo en una actividad puntual. Estos dos aspectos hacen que la Docencia de Bioquímica para el Estudiante de Medicina sea un constante desafío. Habitualmente el proceso educativo bioquímico se iniciaba a nivel descriptivo de las moléculas monoméricas fundamentales para posteriormente evaluar sus modificaciones, síntesis de polímeros y regulación con énfasis en los sistemas autorregulados. La integración de estas funciones Bioquímicas hasta la célula, el tejido o el órgano se dejaban a cursos posteriores o lisa y llanamente no se planteaban. En las últimas décadas se publicaron magníficas síntesis del conocimiento Bioquímico que partiendo desde un nivel muy químico o fisicoquímico llegaban a un análisis conceptual de un problema médico grueso como el Cáncer Humano: The Molecular Biology of the gene (Watson, Hopkins, Roberts, Steltz, Weiner) 1988. En forma similar se publicó un extenso tratado de Citología fuertemente impregnado de Bioquímica "química": The Molecular Biology of the Cell (Alberts-Bray-Lewis-Ratt-Roberts-Watson) 1989. La Facultad de Medicina de la U. Católica en este contexto solicitó a la Fac. de Ciencias Biológicas en 1991 la integración de los Cursos de Bioquímica y Citología en una sola actividad Docente. Las características del Curso integrado actual, bajo la Dirección del Dr. F. Leighton, serán presentados para su discusión: Se destaca el uso intensivo de un texto integrado de Bioquímica y Citología, el uso frecuente de la resolución de problemas cuantitativos y la revisión sistemática de publicaciones periódicas relevantes en su formato original. Además se estableció un calendario de Profesionales invitados que enfatizaron la integración del conocimiento.

EVOLUCION IN VITRO DE ACTIVIDAD ENZIMATICA MEDIANTE MUTAGENESIS COMBINATORIA. (In vitro evolution of enzymatic activity through combinatorial mutagenesis). Osuna, J., Flores, H., Vialdi, H., Munguía, M. E. y Soberón, X. Instituto de Biotecnología, UNAM, Aptdo. Postal No.510-3, Cuernavaca, Mor. 62271, México.

La utilización de metodología de DNA recombinante ha tenido un gran impacto en el estudio de la relación estructura-función en proteínas. Dentro de los diferentes enfoques que se han desarrollado, en nuestro laboratorio hemos optado por el esquema de mutagénesis combinatoria, en el cual se introducen cambios simultáneos en varios residuos de una proteína, a tasas controladas. La hipótesis que subyace a la utilización de este esquema, consiste en suponer que la compleja red de interacciones que se establecen en los sitios activos de proteínas requieren la contribución de varios residuos que se influyen mutuamente. Los mecanismos por los que el sistema inmune genera repertorios de sitios de combinación y los que se observan en la evolución de las proteínas en general, sugieren que una misma arquitectura proteica es capaz de adaptarse a varias funciones y que estas funciones pueden aparecer a través de variaciones en zonas aledañas en el espacio tridimensional.

Como un primer paso en la generación de actividades novedosas, a partir de proteínas naturales, hemos aplicado esquemas de mutagénesis combinatoria a proteínas modelo, tales como β -lactamasa y endonucleasa EcoRI. Empleamos DNA sintético, reacción en cadena de Polimerasa (PCR) y electroporación, para obtener bibliotecas mutantes con las máximas eficiencias alcanzables. Posteriormente, utilizamos sistemas de ensayo simple o selección para detectar mutantes con actividades interesantes.

En los dos sistemas estudiados, se han encontrado mutantes que revelan aspectos relevantes sobre la especificidad y el mecanismo de catálisis y que no podrían haber sido aisladas mediante otros enfoques. Hemos encontrado mutaciones múltiples, con efectos no aditivos que revelan la redundancia en la determinación de la especificidad de EcoRI. En el caso de β -lactamasa, hemos descubierto nuevas mutantes activas contra cefalosporinas de 3a. generación, así como variantes activas de residuos catalíticos.

MODIFICACION QUIMICA DE RESIDUOS DE ARGININA Y LISINA DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE *E. coli* (Chemical modification of arginyl and lysyl residues in *E.coli* phosphoenolpyruvate carboxykinase). ¹Bazaes, S., ²Silva R., ³Goldie, H., ³Cardemil, E. y ³Jabalquinto, A.M. Departamentos de Química, ¹UMCE, ²USACH, Chile y ³Universidad de Saskatchewan, Canada.

Experimentos previos han indicado que la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de *E. coli* a diferencia de todas las PEPCKs estudiadas, no contiene grupos sulfhidrílos reactivos. Como parte de una investigación dirigida a obtener información estructural de las PEPCKs dependientes de ATP, se estudia la reactividad de residuos básicos.

La enzima es inactivada por 2,3-butanodiona y pirenoglixal, reactivos dirigidos a residuos de arginina. Los sustratos ADP mas PEP en presencia de Mn^{2+} , protegen a la enzima de la inactivación por las dionas. La inactivación completa de la enzima se correlaciona con la incorporación de 1 mol de pirenoglixal por mol de enzima. Por otra parte, el piridoxal 5-fosfato también produce la inactivación de la enzima con una estequiometría de 1 mol de reactivo incorporado por mol de enzima. La inactivación es prevenida por los sustratos ADP o PEP en presencia de Mn^{2+} . Estos resultados apoyan la presencia de residuos funcionales de lisina y arginina en la PEPCK de *E. coli*.

Actualmente se trabaja en la identificación del residuo de lisina reactivo.

Financiado por DICYT-USACH, FONDECYT 91-0446 y DIUMCE QM 92-05.

LA LIMITACION DE FOSFATO AFECTA LA EXPRESION GENICA GLOBAL EN *Thiobacillus ferrooxidans*. (Phosphate limitation affects global gene expression in *Thiobacillus ferrooxidans*). Seeger, M. y Jerez, C.A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

T. ferrooxidans participa activamente en el ciclo biogeoquímico del hierro. El fosfato (Pi) es un nutriente esencial, que puede estar en forma no biodisponible, lo cual podría afectar seriamente la actividad de este microorganismo. En el presente estudio, se caracterizaron los cambios globales en la síntesis de proteínas de *T. ferrooxidans* en respuesta a la hambruna de Pi (Seeger, M. and Jerez, C.A., 1993, FEMS Microbiol. Lett. 108: 35-42; Seeger, M. and Jerez, C.A., 1993, Geomicrobiol. J. 10: 227-237). Para localizar algunas de estas proteínas, se empleó yodación de la superficie celular y análisis de la membrana externa. Mediante electroforesis en geles bidimensionales se observó que al menos 25 proteínas alteraron su síntesis en hambruna de Pi. La marcación de células enteras con ¹²⁵I sugirió que varias de las proteínas desreprimidas en hambruna de Pi estarían expuestas en la superficie celular. El fraccionamiento subcelular demostró que éstas se encuentran en la membrana externa. Las proteínas desreprimidas por carencia de Pi pueden formar parte del sistema de captación de este nutriente en *T. ferrooxidans*.

Financiado por FONDECYT 91-1010, UNIDO, ICI, SAREC y Universidad de Chile.

EFFECTOS DE INHIBIDORES SOBRE UNA MUTANTE DE LA SUBUNIDAD α DE LA CASEINA QUINASA II DE *XENOPUS LAEVIS*. (The effect of inhibitors on a mutant of the α subunit of *X. laevis* Casein Kinase II). Gatica, M., Jedlicki, A., Connolly, C. y Allende, J.E. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La caseína quinasa II (CKII) es una proteína quinasa presente en el núcleo de todas las células eucarióticas. Esta enzima fosforila muchas enzimas y proteínas involucradas en la síntesis de ácidos nucleicos y parece participar en los mecanismos que regulan la división celular. La enzima en estado nativo es un heterotetramero con una estructura $\alpha_2\beta_2$, siendo la subunidad α activa por sí sola mientras que la subunidad β es regulatoria con una capacidad de activar 5-7 veces la actividad de α . En nuestro laboratorio hemos clonado, secuenciado y expresado en bacterias los cDNAs de oocitos de *X. laevis* que codifican para ambas subunidades. Recientemente, mediante la técnica del PCR hemos producido una mutante de la subunidad α en una región muy básica de dicha proteína. La mutación cambia las lisinas 78 y 79 por ácidos glutámicos. Esta mutante (α E^{78E79}) es activa y puede ser activada por la subunidad β con una eficiencia similar a la de la α^{wt} . La mutante α E^{78E79}, sin embargo, es considerablemente más resistente a la inhibición por heparina, poli U y copolímero glutir (4:1), que son potentes inhibidores de la α^{wt} . Estos resultados nos indican que estos inhibidores polianiónicos posiblemente interactúan con la región básica de α que ha sido mutada en α E^{78E79} y que la subunidad β interactuaría con una región diferente de α .

(Apoyado por FONDECYT-CHILE, The International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology y The Council for Tobacco Research).

LOCALIZACION SUBCELULAR DE HEXOQUINASAS EN TEJIDOS DE RATA. (Subcellular localization of hexokinases in rat tissues). *Preller, A. y *Wilson, J.E. *Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, *Departamento de Bioquímica, Michigan State University.

En mamíferos la fosforilación de glucosa para producir glucosa-6-fosfato es catalizada por cuatro isoenzimas denominadas A,B,C y D de acuerdo al orden con que eluyen en cromatografía de intercambio iónico. Las hexoquinasa A y B se encuentran asociadas a mitocondrias y la isoenzima D ha sido descrita tanto en el citoplasma como en el núcleo de las células en que se encuentra. No se conoce la distribución celular de la hexoquinasa C aunque se la ha considerado clásicamente como enzima "soluble".

Para estudiar la localización subcelular de esta isoenzima se utilizó un procedimiento inmunohistoquímico para el cual se usó un anticuerpo monoclonal específico para hexoquinasa C; como segundo anticuerpo se usó anti-IgG de ratón conjugada con peroxidasa. En todos los tejidos examinados la enzima se encontró en tipos celulares específicos y siempre asociada a la periferia del núcleo, lo que se corroboró mediante microscopía confocal. Esta localización perinuclear de hexoquinasa C contrasta con la asociación de las isoenzimas A y B a mitocondrias. Resultados similares en cuanto a la localización de hexoquinasas A y C se encontraron en células PC-12 en cultivo. No se detectó isoenzima C en fracciones nucleares de riñón e hígado; la actividad enzimática se encontró siempre en la fracción soluble de las preparaciones. Estos resultados sugieren que la hexoquinasa C se asocia débilmente a la superficie externa del núcleo, asociación que es destruida durante el proceso de homogeneización y preparación de las fracciones nucleares. (Financiado por NIH Grant NS-09910 y Fogarty International Research Fellowship 1 F05 TWO 4381).

ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL DE SALMONIDEOS, CONTRA EL AGENTE CAUSAL DEL SINDROME DEL SALMON COHO. (Salmonids humoral immune response studies, against the causative agent of salmon coho's syndrome). Elizalde, J.J., ^{1,2}Juica, F., ¹Janett, A., ¹Aguayo, J., ¹Leal, J., ¹Yudelevich, A., ²De Ioannes, A.E., ¹Becker, M.L. ¹Bios Chile Ingeniería Genética S.A., ²Pontificia Universidad Católica de Chile, ³Pesquera Ventisqueros S.A..

El síndrome del salmón coho es una patología infecciosa y mortal, causada por *Piscirickettsia salmonis*, que afecta a especies salmonídeas de la X región. Actualmente, no se dispone de métodos de diagnóstico adecuados de la enfermedad y se efectúa sólo en peces moribundos mediante un examen anatómico-patológico.

El objetivo general de este trabajo, ha sido estudiar la respuesta inmune humoral de los salmonídeos contra *P. salmonis*, con el propósito de sentar las bases para su uso potencial en el desarrollo de un método diagnóstico de esta enfermedad.

Los resultados muestran el aislamiento del patógeno, mediante cultivo *in vitro* en la línea celular de salmonídeos CHSE-214 y su caracterización morfológica, corroborando su pertenencia al género *Rickettsiales*.

Para detectar la presencia de anticuerpos séricos en salmonídeos, se estandarizó un ELISA con una población experimental de salmonídeos inmunizados con hemocianina de loco, utilizando un suero comercial anti-inmuglobulinas de trucha (IgM). También, para controlar las condiciones del ensayo, se desarrolló un reactivo oligoclonal anti-IgM de salmón coho, utilizando como antígeno una fracción de IgM purificada mediante técnicas de cromatografía de exclusión y afinidad.

De esta manera, utilizando como antígeno la bacteria aislada *in vitro*, se evaluó la presencia de anticuerpos contra el patógeno en un banco de sueros de salmones coho de la zona endémica y también, en salmonídeos sanos inmunizados con *P. salmonis*. Se observó que tanto los salmones diagnosticados con el síndrome, como los peces inmunizados con la bacteria, presentaron un leve aumento del título de anticuerpos contra el patógeno.

Nuestros resultados permiten proponer, que en esta patología no habría una respuesta inmune humoral protectora significativa contra *P. salmonis*, fenómeno similar al encontrado en otras ictiopatologías.

Proyecto CORFO PONTEC N° 91-006.

ESTUDIOS DE FUNCIONALIDAD DE LA PROTEÍNA Gs DE OOCITOS DE *Xenopus laevis*. (Studies of the functionality of the Gs oocyte protein from *Xenopus laevis*)

Antonelli, J.M y Olate, J. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La adenilil ciclasa de membrana plasmática es activada por la proteína Gs. En este trabajo reportamos que una subunidad α de Gs clonada de una genoteca de oocitos de *Xenopus laevis*, no reconstituye la actividad de adenilil ciclasa de un sistema de mamíferos. A raíz de este resultado se diseñó la construcción de quimeras entre la subunidad α de Gs de oocitos y una subunidad α de Gs humano. Los estudios bioquímicos realizados con estas proteínas quiméricas nos permitieron identificar la región aminoacídica en la proteína de *Xenopus* responsable de la falta de acoplamiento con la adenilil ciclasa. Esta región se encuentra en un fragmento de 126 aminoácidos ubicado en el extremo amino terminal de la proteína de oocitos. Resulta muy interesante destacar que en esta región se concentra la mayor cantidad de diferencias aminoacídicas entre las dos proteínas Gs estudiadas.

Apoyado por FONDECYT 90-0059 y Mc Arthur Foundation

IDENTIFICACION DE HISTONA H₁ EN LA CROMATINA DE *T. cruzi*. (Identification of histone H₁ in *T. cruzi* chromatin). Toro, G. C. y Galanti, N. Depto. de Biol. Cel. y Genet., Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

En el núcleo interfásico, la cromatina de *T. cruzi* se presenta con el aspecto típico de otros eucariontes; no obstante no se condensa en cromosomas durante la división celular. En eucariontes superiores se postula que la histona H₁ juega un rol fundamental en el mecanismo de compactación de la cromatina; el comportamiento singular de la cromatina del *T. cruzi* y el hecho que distintos autores no encontraran una histona con migración similar a las H₁ de eucariontes superiores en geles de poliacrilamida, llevó a postular que esta histona no estaría presente en *Trypanosomatids*.

En este trabajo se demuestra la presencia de una histona H₁ en *T. cruzi*. Esta proteína es soluble en 0,75 M PCA y en 5% TCA, es extraída desde la cromatina entre 0,35 y 0,5 M NaCl, presenta reactividad cruzada con un suero anti histonas H₁ de espermios de erizo de mar y su composición aminoacídica es similar a otras histonas H₁ descritas. Cuando esta proteína se purifica por HPLC, su perfil de elución corresponde con el de histona H₁ de timo de ternera. Digerida con proteasas, la secuencia de aminoácidos de los péptidos resultantes presenta alto grado de homología cuando se compara con el dominio carboxiterminal de otras histonas H₁ conocidas. Como histonas H₁ de ciliados, presenta migración diferente de histonas H₁ de mamíferos, en geles de poliacrilamida-SDS o urea-ácido.

Se concluye que histona H₁ está presente en la cromatina de *T. cruzi*. El hecho que este parásito no condense su cromatina durante la división celular, sugiere que el rol de esta proteína en el mecanismo de compactación de la cromatina se ha sobreestimado, o bien que esta característica podría estar relacionada con otros rasgos, tales como un conjunto de histonas divergentes, o una histona H₁ peculiar.

Financiamiento: DTI, U. de Chile B32 12-9013 y SAREC

REGULACION DE LA EXPRESION DEL GEN DE PRO-OPOMELANOCORTINA (POMC) EN TESTICULO DE RATA. (Regulation of POMC gene expression in rat testis). Concha, I.L., Figueroa, P., Yañez, A., Burzio, L., Pratt, B.* y Chronwall, B.*. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile y *Medical School, University of Missouri-Kansas City, U.S.A.

El gen de POMC codifica para una proteína precursora de neuropeptidos como β -End, ACTH y MSH en la pituitaria. Estudios inmunocitoquímicos han detectado la presencia de péptidos derivados del precursor POMC en tejidos extrapituitarios como testículo. Los transcritos POMC son especies heterogéneas de 800 nt en testículo y son menos abundantes que el transcrito de 1200 nt, observado en pituitaria.

Nuestro laboratorio ha encontrado que el mRNA POMC testicular se sintetiza aproximadamente entre los 5 y 15 días de edad en la rata, lo que corresponde al inicio de la profase meiótica I. Por hibridación *in situ* con una sonda complementaria a ACTH, se localizó el mRNA en el citoplasma de las células somáticas y germinales del testículo. Estos resultados confirman que las células germinales tendrían una participación importante en la síntesis de mRNA POMC.

Una de las vías de regulación de la expresión del gen POMC en el Lóbulo Intermedio de la pituitaria está gobernada por Dopamina. Con el objeto de averiguar si dicha regulación es posible en testículo, se hibridó con una sonda 48 mer complementaria a una región de consenso del mRNA del receptor de Dopamina D₂(415), identificando la banda esperada de 2,5 Kb, además de otras. El mRNA de la isoforma más larga del receptor D₂(444) no fue detectado, coincidente con los estudios de localización.

Se intentó demostrar funcionalidad del receptor putativo por medio de tratamientos crónicos con el antagonista Haloperidol. Los resultados no muestran un aumento significativo del mRNA POMC, situación que deberá evaluarse por amplificación (RT-PCR).

La presencia del mRNA D₂ en relación a la expresión del gen POMC en testículo será discutida. (DID-UACH y FONDECYT).

PRESENCIA DE snRNP EN EL NÚCLEO DE GAMETOS MASCULINOS DE DISTINTOS ORGANISMOS. (Presence of snRNPs on the nucleus of male gametes of distinct organisms). Delgado, F., Mansilla, J., Silva, T., Brito, M., Concha, I. y Burzio, L.O. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

Recientemente nuestro laboratorio ha demostrado la presencia de los snRNA U1 y U2 en espermatozoides de rata y ratón. Estos hallazgos se han apoyado realizando análisis electroforéticos en geles 10% poliacrilamida BM urea, "Northern blot" e hibridación *in situ*. Asimismo, se ha demostrado la presencia de los antígenos Sm B, B' y D, asociados a estos snRNA mediante análisis de "Western blot" e inmunocitoquímica.

Con el objeto de extender estos resultados, hemos utilizado aproximaciones metodológicas similares para demostrar la presencia de estas macromoléculas, constituyentes de los snRNP, en espermatozoides de otros organismos. Consecuentemente, se han utilizado sondas complementarias a los snRNA U1, U2, U3, U4 y U5 de humano, rata y ratón, para realizar los análisis de "Northern blot" en muestras de RNA total de espermatozoides. También, utilizando sueros anti-Sm, se han localizado estos antígenos en el núcleo de los espermatozoides estudiados, así como por "Western blot".

Derivado de lo anterior, se ha querido ampliar el estudio de los snRNP a plantas, específicamente en el gametofito masculino (polen), de *Pinus radiata*. Para ello, se han utilizado los enfoques experimentales ya señalados. Los hallazgos en esta estructura, sugieren la existencia tanto de algunos UsnRNA, como de los antígenos Sm asociados a éstos. (DID-UACH, FONDECYT 006390 y STIFTUNG WOLKSWAGENWERK I-65 516)

CARACTERIZACION DE LA CARBOXIQUINASA FOSFO-ENOLPIRUVICA (PEPCK) C364S DE *Saccharomyces cerevisiae* (CHARACTERIZATION OF *Saccharomyces cerevisiae* C364S PHOSPHOENOLPYRUVATE CARBOXY-KINASE. Valiente, A., Berti, M., ¹Frey, P. A. y Cardemil, E. Departamento de Química, Universidad de Santiago de Chile, e ²Institute for Enzyme Research, U. Wisconsin-Madison.

En PEPCKs dependientes de ATP o de GTP, se ha informado la presencia de residuos de cisteína altamente reactivos, probablemente ubicados en el sitio de unión del nucleótido. En la PEPCK (ATP) de levadura, la cisteína más reactiva frente a 1,5-IAEDANS es la 364 [Alvear et al., *BBActa* 1119, 35-38 (1992)], y el patrón de protección por sustratos frente a la inactivación sugiere que se trata de un residuo del sitio del nucleótido. Hemos diseñado una estrategia para obtener la PEPCK C364S, basada en el método de mutación sitio-específica de Kunkel. El gen mutado se expresó en la cepa de levadura PUK-3B (pck-ade-ura-). La enzima se purificó a homogeneidad, y sus parámetros cinéticos (aparentes) son: Km PEP, 211 ± 60 μM; ADP, 79 ± 11 μM; CO2 17 ± 1 mM; kcat, 27 ± 1 s⁻¹. Estos valores no son significativamente diferentes de los obtenidos para la enzima nativa. Se concluye que la cisteína 364 no participa en las etapas químicas de la catálisis. Los datos obtenidos no dan evidencia de que se encuentre en el sitio de unión del nucleótido, aunque no podemos descartar que el -SH juegue un papel en la unión, que pueda ser también realizado por el -OH.

Financiado por FONDECYT 91-0446 y DICYT-USACH.

CORRECCION A LA SECUENCIA DEL GEN DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE *Saccharomyces cerevisiae* (CORRECTED SEQUENCE OF THE *Saccharomyces cerevisiae* PHOSPHO-ENOLPYRUVATE CARBOXYKINASE GENE). Krautwurst, H., ¹Marcus, F. y Cardemil, E. Departamento de Química, Universidad de Santiago de Chile, y ²Chiron Corporation, Emeryville, California.

A partir de la secuencia del gen de la carboxiquinasa fosfoenolpiruvica (PEPCK) de *S. cerevisiae*, se ha inferido que la proteína tendría 553 aminoácidos [Stucka et al., *Nucleic Acids Res.* 16, 10926 (1988)]. Como consecuencia de trabajos de mutación sitio-específica en nuestro laboratorio, detectamos discrepancias con la secuencia publicada del gen, y decidimos proceder a secuenciar ambas hebras del DNA correspondiente. Los datos obtenidos indicaron la ausencia de 1 base, la incorporación de 3, y el intercambio de 3, con respecto a los datos de la literatura, pre-diándose ahora una proteína de 549 residuos. Las diferencias entre lo predicho (1ª línea) y lo encontrado (2ª línea) son:

H(95)-V-L-K-E-H-G-L-S-T-V-K-A(107) R(122)
P(95)-C-S-E-R-T-W-S-I-N-R-E-R-A(108) A(123)

Q(321) D(543)-W-S-S-I-R-V-N-E-T-C(553)
H(322) A(544)-G-P-Q-F-E(549)

Las zonas subrayadas han sido confirmadas por secuenciación directa de la proteína. Se concluye que la PEPCK de *S. cerevisiae* es una proteína de 549 aminoácidos, con un PM de 60.754.

Financiado por FONDECYT 91-0446 y DICYT-USACH.

SISTEMA LIGNINOLITICO DE *Ceriporiopsis subvermispora* EN FASE SOLIDA. Larraín, J. y Vicuña, R. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En este trabajo se estudian los componentes del sistema ligninolítico de *C. subvermispora* cuando crece sobre madera, y en condiciones que imitan su medio de acción natural. Se creció el hongo en astillas de Pino radiata (autoclavadas, no extraídas), con una humedad del 60 %. Las enzimas se obtuvieron lavando las astillas con tampón acetato. Por análisis visual y de micrografía electrónica se aprecia crecimiento del hongo. Las actividades enzimáticas extraídas fueron las mismas de cultivos líquidos: manganeso peroxidasa (MnP), y fenol oxidasa (FO). La FO aparece sólo en los primeros 8 días, y tiene pIs y peso molecular (P.M.) similar a su análoga en líquido. La MnP posee una cinética de aparición compleja; los primeros 8 días se extraen actividades con características (pI, y P.M.) tipo MnP de líquido, y a partir del día 16 se detecta una actividad con pIs y P.M. muy diferentes a las anteriores. Los resultados nos permiten concluir que el hongo crece en madera sin extraer. En cuanto a sus componentes ligninolíticos no se detecta lignina peroxidasa, pero sí MnP y FO. Destacándose la detección de una MnP tardía, con fuertes evidencias de corresponder a una isoenzima diferente de las encontradas en líquido. Esto plantea interrogantes respecto a si la diferencia, es por glicosilación o a nivel genético.

* Becario Residente en Investigación DIUC.

COMPONENTES DEL SISTEMA LIGNINOLITICO DEL HONGO BASIDIOMICETE *Ceriporiopsis subvermispora* (Ligninolytic system of the white-rot fungi basidiomycete *Ceriporiopsis subvermispora*) Lobos, S., Tapia, J., Salas, L. y Vicuña, R. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Ceriporiopsis subvermispora es un hongo basidiomicete que presenta una importante capacidad ligninolítica y una gran selectividad en el ataque a la lignina en la madera. Estas características hacen atractivo el estudio en profundidad de su sistema ligninolítico con el fin de identificar los componentes esenciales del proceso. Estudios en cultivos *in vitro* muestran que el sistema ligninolítico de este hongo está compuesto de manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa. La producción de ambas enzimas es regulada por la concentración del ión Mn²⁺ en el medio de crecimiento. Siete isoformas de manganeso peroxidasa han sido observadas mediante isoelectroforesis en el rango de pIs entre 4,13 y 4,58. Este perfil de isoformas permanece inalterado con diferentes concentraciones de amonio y no es regulado por la edad del cultivo. A su vez, la actividad lacasa es producida en la forma de varias isoformas que exhiben pIs entre 3,47 y 3,55. En este caso el número de isoformas aumenta con la edad del cultivo. Ambas enzimas son secretadas fuertemente glicosiladas y son completamente inactivadas por tratamiento con endoglicosidasas. En ausencia de endoglicosidasas las enzimas presentan una alta estabilidad. Se determinaron las secuencias aminoácidas N-terminales de las isoformas de MnP, demostrando hasta el momento la existencia de al menos dos genes para MnP. La enzima lignina peroxidasa (LIP), descubierta tempranamente en *Phanerochaete chrysosporium* e implicada en varias reacciones de degradación de lignina *in vivo*, no ha sido detectada en *C. subvermispora*, bajo diferentes condiciones de cultivo. Sin embargo, mediante el uso de oligonucleótidos construidos a partir de una secuencia muy conservada en cuatro genes LIP de *P. chrysosporium*, fue posible la obtención de clones cDNA-LIP en *C. subvermispora*. Este sistema ligninolítico parece constituir una nueva estrategia para degradar lignina ya que secreta una combinación diferente de enzimas a las utilizadas por otros hongos ligninolíticos mejor estudiados.

RESPUESTA ADAPTATIVA ORGANICA AL CONSUMO DE ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS N-3 DE ORIGEN MARINO. (Adaptive organic response to the consumption of n-3 polyunsaturated fatty acid from marine sources). Garrido, A., Gárate, M., Campos, R., y Valenzuela, A. Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos (INTA), Universidad de Chile.

Se ha demostrado que poblaciones que ingieren altas cantidades de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) n-3, principalmente de origen marino, presentan baja incidencia de enfermedades cardiovasculares, debido a una actividad hipolipidéica y cambios que se producen en el metabolismo de los eicosanoides. Sin embargo, el consumo de AGPI n-3 no está exento de riesgos. El enriquecimiento de las membranas celulares en estos ácidos grasos, por efecto de su consumo, nos ha motivado a estudiar el riesgo potencial de estrés oxidativo celular. La ingesta de cantidades relativamente altas de AGPI n-3 provoca, en ratas tanto jóvenes como envejecidas, un aumento de la susceptibilidad al desarrollo de lipoperoxidación, inducida *in vitro*, y una disminución de los niveles tisulares de vitamina E. A nivel tisular se observa, además, una disminución del contenido de glutatión reducido y un cambio en la actividad de glucosa-6-fosfatasa y la 5' nucleotidasa. Sin embargo, aunque la susceptibilidad a oxidar de los eritrocitos de estos animales es mayor, como consecuencia de la ingesta de AGPI n-3, la capacidad antioxidante plasmática aparece aumentada en estos animales. Nuestros resultados nos permiten proponer que la ingesta de AGPI n-3, induce una respuesta adaptativa a nivel plasmático, aumentando la capacidad antioxidante de este a través del cambio en la concentración de algunos de sus componentes compensando, de esta manera, el desarrollo de una lipoperoxidación generalizada como consecuencia de la ingesta de AGPI n-3.

Financiado por FONDECYT 683-92.

OPTIMIZACION DE ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS N-3 (AG n-3) DE ORIGEN MARINO PARA USO NUTRICIONAL Y/O FARMACOLÓGICO. (Improvement of n-3 polyunsaturated fatty acid from marine source for nutritional and/or pharmacological use). Nieto, S., Sanhueza, J., Ganga, A., Rojas, E., y Valenzuela, A. Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Universidad de Chile.

La importancia nutricional y farmacológica de los AG n-3 de origen marino, ha motivado preocupación para buscar fuentes naturales que los provean en forma segura, accesible y económica. Nuestro grupo realiza investigaciones relacionadas con el mejoramiento de los procedimientos para obtener, estabilizar y concentrar AG n-3 a partir de aceite de pescado, especialmente de eicosapentaenoico (C20:5, EPA) y ácido docosahexaenoico (C22:6 DHA). El EPA ejerce efectos antitrombóticos y antiinflamatorios, y el DHA es esencial en la nutrición del recién nacido. Actualmente trabajamos en la obtención de concentrados de EPA y DHA al estado libre o como triacilglicéridos. El procedimiento se basa en dos etapas, una química y otra enzimática. Mediante el procedimiento químico, preparamos concentrados de EPA y DHA en la forma de ésteres a partir de aceite de pescado previamente winterizado. Los ésteres son concentrados mediante la formación de aductos de urea. La etapa enzimática, se basa en la preparación de 2' monoacilglicéridos mediante el tratamiento del aceite con una lipasa 1'-3' estereoespecífica. Los productos de la hidrólisis serán separados mediante cromatografía y transesterificados con EPA y DHA éster derivados, obtenidos en la etapa química, para lo cual se utilizará la lipasa, operando como un sintetasa. Aunque los resultados son preliminares, la factibilidad de desarrollar la tecnología que proponemos es auspiciosa. Con la aplicación de esta, podremos dar un nuevo destino al aceite de pescado del cual nuestro país es uno de sus más importantes productores.

Financiado por FONDECYT (Proyectos 1071-91 y 1930808).

ESTUDIOS DE ESTRUCTURA-FUNCION DE PROTEOGLICANOS. Caracterización de un proteoglicano de dermatán sulfato y su rol en mineralización. (Structure-function studies of Proteoglycans. Characterization of a dermatán sulfate proteoglycan and its role in mineralization). Rodríguez, J.P., Carrino, P., y Caplan, A.L. Unidad de Biología Celular, INTA, U. de Chile; Skeletal Research Center, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA.

Los proteoglicanos (PG) son macromoléculas ampliamente difundidas en diferentes sistemas biológicos y que presentan una gran variedad de isoformas. A pesar de la abundante información existente sobre la participación de los PG en distintos procesos biológicos, no se ha establecido con precisión la relación entre estructura de los componentes y función(es) específicas. Para poder estudiar esta relación, se utilizan como sistemas biológicos células de estroma de testículo y progenitoras hematopoyéticas y el sistema celular de la matriz de la cáscara del huevo, todos los cuales producen diferentes PG. En este trabajo se describe la purificación y caracterización de un PG de dermatán sulfato (DS) presente en la matriz de la cáscara del huevo y su posible rol en el proceso de mineralización. El DS se analiza por cromatografía de intercambio iónico y por filtración en gel. En DEAE-Sephacel el DS eluye con 0,25M y 1 M NaCl. La fracción eluida con 0,25M NaCl cromatografía en una columna de Sephara CL-2B como un solo pico con un K_{av} 0,76 mientras la fracción eluida con 1M lo hace con una gran polidispersidad. La fracción de 1M muestra un perfil de elución similar al observado con la fracción de 0,25 M, luego de calentamiento a 95°C. El análisis de las cadenas de glicosaminoglicanos (GAG) de ambas fracciones revela que contienen el mismo tipo y tamaño de cadenas. El core proteico de ambas fracciones, tiene un peso molecular relativo de 75.000. Estos resultados sugieren que ambas fracciones contienen el mismo PG de DS y que el patrón de elución en DEAE-Sephacel se debe a la capacidad de este PG de autoasociarse. El ensayo de la función de este componente aislado se observa que induce un cambio en la morfología de los cristales de carbonato de calcio, cuyo significado en mineralización *in vitro* es discutido.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1930816.

ETAPAS CRUCIALES EN LA BIOMINERALIZACIÓN DE LA CÁSCARA DEL HUEVO. (Crucial steps on eggshell biomineralization). Fernández, M.S., Araya, M. y Arias, J.L. Depto. Cs. Biológicas Animales, Fac. Cs. Veterinarias, Universidad de Chile.

La biomineralización de la cáscara del huevo es un proceso mediado por células epiteliales dispuestas en una línea de ensamblaje que depositan o cesan de producir particulares componentes a medida que el huevo se mueve por el oviducto. El seguimiento *in oviductus* de huevos en distintas etapas de formación ha permitido evidenciar que una de las etapas cruciales en este proceso consiste en la formación de las membranas de la cáscara, lo que ocurre en el istmo, entre las 3,5 a 4,5 h desde la última oviposición. Inmunolocalizadamente se determinó que el colágeno tipo X se localiza en el núcleo central de las fibras constitutivas de las membranas. Posteriormente, al final del istmo se depositan las lamelas de queratán sulfato inmunodetectable, lugar donde ocurre la nucleación de los primeros cristales. Caudalmente estos cristales crecen coordinadamente con el depósito de matriz de la cáscara inmunoreactiva tanto a queratán como dermatán sulfato. La particular disposición cristalina durante la formación de la cáscara se siguió mediante SEM. Los resultados preliminares muestran una importante influencia de la matriz orgánica sobre la estructura cristalina de la cáscara.

(Proyecto financiado por FONDECYT 1931136 y Dirección de Postgrado, Universidad de Chile).

BIOLOGIA DEL TRASPLANTE DE MEDULA OSEA...y otras emociones. (Bone marrow transplantation and its biology). Mingue J.L. Unidad de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile

El Trasplante de Médula Osea (TMO), en realidad implica trasplantar la célula troncal hematopoyética, obtenida de "cosechas" de médula ósea, de sangre periférica o de cordón fetal a un receptor (autólogo o alogénico), utilizando como vehículo la circulación sanguínea. La célula trasplantada reconoce sitios de anclaje en el estroma de la médula ósea del receptor, utilizando sistemas ligando-receptor del tipo de selectinas, integrinas y de matriz extracelular. La célula "anclada" inicia así una secuencia de procesos de proliferación, diferenciación y migración que permiten reconstituir la hematopoyesis medular y el egreso de células hematopoyéticas maduras a la circulación. Estas secuencias son finamente reguladas por varias señales moleculares y celulares, en las cuales participan varios factores de crecimiento. Para la modalidad de TMO autólogo (TAMO) es necesario realizar manipulaciones ex-vivo de las "cosechas" obtenidas, a fin de purificar, "limpiar", evaluar y crio-preservar la célula troncal trasplantable. La implementación en Chile de técnicas de manipulación "ex-vivo" ha permitido realizar, a partir de 1989, numerosos TAMO en pacientes con tumores linfo-hematopoyéticos y/o sólidos.

AISLAMIENTO DE GENES DE *Citrus limon* INVOLUCRADOS EN LA RESPUESTA CONTRA FITOPATOGENOS. (Isolation of *Citrus limon* genes involved in the response against phytopathogens). Chiong, M. y Pérez, L.M. Depto. Bioquímica y Biología Molecular. Facultad Cs. Químicas y Farmacéuticas. U. de Chile.

C. limon es capaz de defenderse frente al ataque de hongos induciendo la vía fenilpropanoide, con la consiguiente producción de metabolitos secundarios fungistáticos/fungitóxicos (fitoalexinas), derivados de cumarina.

La inducción de la vía fenilpropanoide se cuantificó a través de la medición de la actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL). Se determinó cinéticas de inducción de PAL tanto en plántulas y albedo de *C. limon* como en tejidos desdiferenciados obtenidos a partir de ellos. Los máximos de inducción variaron de acuerdo al origen del tejido y al inductor usado. Experimentos con inhibidores de transcripción y traducción de genes nucleares y organelares, junto con tratamientos con el herbicida Norflurazon, permitieron determinar una posible participación de los cloroplastos en el mecanismo de la inducción de PAL.

A partir de mRNA obtenido de callos de hipocotilos de plántulas de *C. limon* inducidos con pectinasas de *Alternaria alternata* y daño mecánico, se pudo obtener una genoteca de cDNA en fago lambda gt22A. Usando una sonda de PAL de poroto se revisaron 500.000 clones obteniéndose 6 clones positivos para PAL. Uno de ellos se subclonó en el plasmidio pSPORT1, y las bacterias que poseen este plasmidio poseen además actividad PAL.

Trabajo financiado por los proyectos FONDECYT 90-0066 (M. Chiong) y 91-886 (L.M. Pérez).

ACTIVIDADES ATPásica Y ADPásica PRESENTES EN CORAZON DE RATA. (ATPase and ADPase activities in rat heart). Galleguillos, M., Valenzuela, M.A., Kettlun, A.M., Chayet, L., Collados, L., Mancilla, M. y Traverso-Cori, A. Depto. Bioquímica y Biología Molecular. Facultad Cs. Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

La adenosina, ADP y ATP (extracelulares) tienen una activa participación en la agregación plaquetaria, tono vascular y función cardíaca. Los niveles extracelulares de estos compuestos dependen de su metabolismo extracelular donde participa una ecto-5'-nucleotidasa. Nuestra hipótesis de trabajo propone que además actuaría la ATP-difosfohidrolasa o apirasa (ATPasa-ADPasa), enzima dependiente de Ca^{2+} , cuyos productos finales son Pi y AMP.

En este trabajo se estudió la localización subcelular y la caracterización cinética de las actividades ATPásica y ADPásica del tejido cardíaco de rata. Para hacer más específica la medición de las actividades ATPásica y ADPásica se utilizaron oligomicina y Ap5A (inhibidor de la quinasa adenilica).

Los estudios cinéticos indicaron que las actividades ATPásica-ADPásica tienen características análogas a las de otras apirases animales: por su pH óptimo, inespecificidad frente a nucleótidos y su dependencia de cationes bivalentes. Además son parte integral de membrana porque se solubilizan con n-octilglucósido y no con fuerza iónica. Las actividades ATPásica-ADPásica solubilizadas son menos afectadas por los inhibidores antes mencionados y comigran en un gel de isoelectroenfoque.

Financiado por DTI N° 3345-9213 (U. de Chile).

ESTUDIOS BIOQUIMICOS DE ATP-DIFOSFOHIDROLASA DE PLACENTA HUMANA Y SU POSIBLE RELACION CON LA NUTRICION FETAL. (Biochemical studies on human placental ATP-diphosphohydrolase and its possible relation to fetal nutrition). Kettlun, A.M., Valenzuela, M.A., Chiong, M., Silva, M.A., Bustamante, J., Briones, A., Chayet, L., Collados, L., Mancilla, M. y Traverso-Cori, A. Depto. Bioquímica y Biología Molecular. Facultad Cs. Químicas y Farmacéuticas. * Hospital J. J. Aguirre. U. de Chile.

Se ha demostrado la presencia de actividades ATPásica y ADPásica en placenta humana sugiriéndose que ambas actividades podrán ser catalizadas por una sola enzima. Esta proposición se apoya en que la misma banda de proteínas aislada de isoelectroenfoque de pI 4,5 tiene acción sobre ambos sustratos y además sobre otros nucleosidos di y trifosforilados. Se confirmó la homogeneidad de esta fracción proteica eluida de gel de isoelectroenfoque por SDS-PAGE donde sólo presentó una banda de proteínas con una M.M. de 64 kDa, análoga a la determinada anteriormente por irradiación con ^{60}Co . Es una glicoproteína con grupo α -D-man y α -D-glc porque sólo dió positivo el revelado de un "western blot" con Con A unida a peroxidasa y no con otras lectinas. El método cinético llamado gráfico de competencia indicó también que la hidrólisis de los ATP y ADP ocurría en un mismo sitio activo. Como la fracción homogénea fue capaz de inhibir la agregación plaquetaria dependiente de ADP, se estudió la actividad de esta enzima en placentas normales y en placentas con algunas patologías (retardo de crecimiento intrauterino) para ver su relación con la regulación del flujo sanguíneo.

Financiado por DTI N° 3345-9213 (U. de Chile).

ACETIL ESTERASAS Y ACETIL XILANO ESTERASAS DE *Penicillium purpurogenum*. (Acetyl esterases and acetyl xylan esterases from *Penicillium purpurogenum*). Egaña, L., Steiner, J. y Eyzaguirre, J. Laboratorio de Bioquímica, Universidad Católica, y Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El xilano, componente principal de las hemicelulosas vegetales, es una molécula compleja, en cuya biodegradación interviene una variedad de enzimas. La molécula se encuentra esterificada por grupos acetato, los que son hidrolizables por esterasas específicas producidas por hongos y bacterias. En este estudio se utilizó una cepa nativa del hongo *Penicillium purpurogenum*, que crece muy bien en paja.

El hongo se creció en medio líquido con agitación, utilizándose sobrenadantes del cultivo como fuentes de enzima. La actividad esterásica (AE) se midió por hidrólisis de p-nitrofenil acetato o α -naftil acetato. La acetil xilano esterasa (AXE) se cuantificó determinando la liberación de acetato por titulación enzimática o mediante HPLC.

Se estudió la producción de AE y AXE en cultivos con distintas fuentes de carbono, siendo la más efectiva el xilano de cáscara de avena acetilado. El sobrenadante de cultivo concentrado fue fraccionado por cromatografía en Bio-Gel P 300, separándose 2 picos con actividad AE y AXE. Uno de ellos se purificó a homogeneidad por cromatografía de intercambio en carboximetil Sephadex C-50 y cromatoforé. El peso molecular de esta enzima es de 23 000 y presenta un punto isoeléctrico de 8,3.

La producción por el hongo de varias isoenzimas de AE y AXE sugiere que estas enzimas cumplirían una distinta función en la compleja hidrólisis del xilano.

Financiamiento: proyectos FONDECYT 0822-90 y 1930673 y UNIDO 91/065.

INMOVILIZACION VIA ANTICUERPOS EN EL ESTUDIO DE LA ASOCIACION ENTRE ENZIMAS. (Enzyme immobilization via antibodies to study enzyme-enzyme interactions). Saez, D., y Siebe, J. C. Instituto de Bioquímica, Fac. de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

En la célula las enzimas de una vía metabólica podrían estar organizadas en complejos multienzimáticos, los que a su vez podrían asociarse con estructuras subcelulares. Algunos de estos complejos serían lábiles, por lo que son difíciles de detectar. Es de nuestro interés estudiar la asociación entre fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) y aldolasa de riñón de cerdo. Entre varias técnicas utilizadas, sólo la inmovilización a una matriz sólida ha permitido detectar una interacción entre ambas enzimas (Berlién, G., León, O., Ludwig, H., y Siebe, J. C. (1990) *Arch. Biol. Med. Exp.* 23, R-239). No obstante, es deseable usar métodos que excluyan modificaciones químicas de las enzimas. Con este objetivo nos propusimos utilizar anticuerpos específicos para la FBPasa unidos a proteína A-Sepharose y, con este sistema, analizar la posible asociación de FBPasa con aldolasa.

Experimentos realizados en solución indican que el anticuerpo no afecta la actividad específica de la FBPasa. Los valores de V_{max} y la K_m para el sustrato y la curva de saturación de la enzima por Fru-1,6-P₂, no variaron significativamente. La inhibición de la FBPasa por Fru-2,6-P₂ y su activación por Mg²⁺ tampoco se afectó. En cambio, la propiedad de la FBPasa que experimentó una notable alteración fue la inhibición alostérica por AMP, por ejemplo, la enzima se hizo insensible al nucleótido después de incubarla con el anticuerpo a una concentración de 10 y 530 µg/mL, respectivamente. Por otra parte, la FBPasa inmovilizada a proteína A-Sepharose, a través de sus anticuerpos, presentó propiedades cinéticas similares a las descritas para el complejo FBPasa-anticuerpo. Al cromatografiar aldolasa en una columna que contenía FBPasa-IgG-proteína A-Sepharose, se observó una retención específica de esta enzima.

Los resultados obtenidos muestran que el sistema indirecto empleado presenta ventajas sobre la inmovilización de tipo covalente, permitiendo su uso en el estudio de la asociación entre enzimas.

(Financiado por: FONDECYT 92-150 y 2930044; DID-UACH S-92-40)

REQUERIMIENTOS PARA EL PROCESAMIENTO DEL PEPTIDO DE SEÑAL COOH-TERMINAL DE LAS PROTEINAS ANCLADAS A MEMBRANA VIA GLICOSIL FOSFATIDIL-INOSITOL (GPI). (Requirements for COOH-terminal signal peptide processing in glycosyl phosphatidyl-inositol (GPI) anchored membrane proteins). AMTHAUER, R., KODUKULA, K., GERBER, L., BRINK, L. and UDENFRIEND, S. Dept. Neurosciences, Roche Institute of Molecular Biology, Nutley, NJ. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

Actualmente se conocen más de 100 proteínas que están ancladas a la membrana vía glicosil fosfatidilinositol (GPI). Nosotros hemos utilizado fosfatasa alcalina de placenta (PLAP) y una mutante derivada de esta (miniPLAP) como proteínas modelo para estudiar la biosíntesis y adición de GPI en este tipo de proteínas. Durante el procesamiento de PLAP naciente, además de la escisión del péptido de señal NH₂-terminal, un péptido de señal COOH-terminal de 29 aminoácidos es removido y una molécula de GPI es covalentemente unida al nuevo COOH expuesto. La traducción *in vitro* de mRNA que codifica para miniPLAP en presencia de microsomas permite obtener miniPLAP madura con GPI unido. Estudios de mutagénesis sitio dirigida han revelado que para obtener miniPLAP-GPI madura es necesario que exista un aminoácido pequeño en el sitio de clivaje/unión de GPI (sitio ω) en la proteína nativa. Estudios similares se realizaron con mutantes en la posición $\omega+1$ y $\omega+2$ (adyacentes y COOH-terminal al sitio ω). La posición $\omega+1$ resultó promiscua. En cambio el procesamiento ocurre solamente cuando en la posición $\omega+2$ se encuentra glicina o alanina. Estas características que determinan el procesamiento del COOH-terminal se asemejan a las descritas para el péptido de señal del extremo NH₂.

Utilizando un sistema post-traduccional de ensayo, que permite medir solamente el procesamiento y adición de GPI, se demostró que ATP y GTP son requeridos para obtener un máximo de procesamiento. Mas aún, la hidrólisis de estos NTP es un requisito. Estudios con células Cos transfectadas con pBC-PLAP, permitieron demostrar que la chaperonina BIP participa en la maduración de estas proteínas. Estos resultados se discutirán en relación a una posible etapa de translocación, previa al procesamiento del COOH-terminal.

EFFECTO DE IONES METALICOS EN LA FORMACION DE FOTOPRODUCTOS EN SOLUCIONES NUTRICIONALES. (Effect of metallic ions on photoproducts formation in nutritional solution). Elanco, C., Gonzalez, G. y Tapia, G. Instituto de Química. UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Las moléculas biológicas no son afectadas por la luz visible, sin embargo en presencia de fotosensibilizadores y oxígeno se generan especies reactivas que producen daño oxidativo. Este daño es favorecido por la presencia de elementos metálicos. Los sueros utilizados en nutrición parenteral contienen glucosa, aminoácidos, vitaminas y elementos metálicos a nivel de trazas. Estudios recientes han demostrado que la vitamina B2 actúa como sensibilizador e induce la formación de un aducto fototóxico con el aminoácido triptófano. Estos antecedentes sumados a las posibles reacciones tipo Fenton que se pueden favorecer en los sueros, fueron estudiadas en condiciones de oscuridad, luz monocromática y luz policromática.

Nuestros resultados indican que en oscuridad el suero permanece estable al menos 1 hr., pero en solo 10 min. de luz policromática se observa una modificación significativa de la vitamina B2 con formación de fotoproductos sin afectar la concentración de glucosa. Los elementos Fe, Zn y Cu incorporados por separado, estimulan la formación de fotoproductos, con luz blanca.

El NaCl ni el KCl modifican las cinéticas de fotodestrucción. La mezcla de estos elementos, refleja una aparente protección por cobre y sales. Con luz monocromática (450 nm), las cinéticas son lentas. En todos los casos, se observa una modificación rápida en los primeros 20 min. y una lenta a tiempos mayores.

Trabajo financiado por DGIP/UCV

ESTABILIDAD TERMICA DE LA PROTEASA DE *Cucurbita ficifolia* EN PRESENCIA DE ADITIVOS. (Thermostability of *Cucurbita ficifolia* protease in the presence of additives). González, G., González, C. y Merino, P. Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso.

Un objetivo de la ingeniería de enzimas es producir preparaciones de enzima estabilizada a ser usadas en síntesis, análisis, medicina y en varias áreas de la biotecnología. La introducción de alcoholes polihídricos al solvente produce la estabilización de macromoléculas en solución. Hemos purificado y caracterizado parcialmente una proteasa del fruto de *Cucurbita ficifolia* y nos ha parecido interesante estudiar el efecto de aditivos sobre su comportamiento de estabilidad térmica.

La enzima (10 U/ml) se incubó a pH 8,0 con distintos aditivos a las temperaturas deseadas y a intervalos regulares se extrae la enzima, se enfrió sobre hielo, determinándose la actividad remanente con el sustrato Azocálcico. Glicerol y manitol al 10% duplicaron la vida media de la enzima a 80°C observándose un 20% de inactivación. La eficiencia estabilizadora del polietilenglicol con un rango de peso molecular desde 400 a 8000 fue directamente proporcional con su peso molecular. Se observó además a mayor peso molecular del polímero menor es la concentración necesaria de este para estabilizar la enzima. El sustrato caseína al 1% aumentó la vida media de la enzima de 40 a 70 min.

Los polialcoholes probablemente actúan sobre la estructura del agua que rodea a la enzima fortaleciendo indirectamente las interacciones hidrofóbicas. La caseína actúa estabilizando a la enzima a través de la formación del complejo enzima-sustrato.

Financiado por DGI/UCV

POSIBLES ROLES DE ALANOPINA Y OCTOPINA DESHIDROGENASAS EN EL CORAZÓN DE CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS. (Possible roles of alanopine and octopine dehydrogenases in the heart of *Concholepas concholepas*). Carvajal, N., Vega, E., Erices, A., Bustos, D. y Torres, C. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El *C. concholepas* puede soportar períodos prolongados de anoxia ambiental, siendo las respuestas adaptativas tejido específicas. En el caso del corazón, en condiciones de anoxia se alteran las propiedades cinéticas y regulatorias de la piruvato quinasa, y se favorece la vía glicógeno-succinato. En este trabajo, analizamos las piruvato-reductasas que contribuirían a reoxidar el NADH glicolíticamente generado en el corazón del molusco.

En lugar de lactato deshidrogenasa, encontramos alanopina deshidrogenasa (ADH) y octopina deshidrogenasa (ODH). La ADH, con un Mr= 41.000, tiene un pH óptimo de 7 y alta especificidad por alanina, con Km aparentes de 0,02 mM, 12 mM y 0,7 mM para NADH, alanina y piruvato, respectivamente. Para la ODH (Mr= 51.000), los pH óptimos son 7 para la síntesis de octopina y 8,2 para su oxidación. La ODH también utiliza lisina, aunque las constantes cinéticas, las relaciones metabólicas de los dos amino ácidos y sus concentraciones en el tejido, favorecen a la arginina como el sustrato fisiológico. Con arginina, las Km aparentes fueron 0,08 mM, 3,1 mM y 2 mM para NADH, piruvato y arginina, respectivamente; para la oxidación de octopina, 0,94 mM para NAD⁺ y 2,7 mM para octopina. ADH y ODH son inhibidas por concentraciones altas de piruvato y el respectivo amino ácido.

Considerando los niveles de las enzimas estudiadas y de los amino ácidos en los tejidos de los moluscos, se sugiere que la ODH participaría en la osmoregulación y la mantención de los niveles de arginina libre, y que la ADH sería la enzima terminal de la glicólisis anaeróbica en el corazón del *C. concholepas*.

CRISTALIZACIÓN DE PROTEÍNAS. PRIMEROS INTENTOS DE CRISTALIZACIÓN DE LA PROTEASA DEL FRUTO DE *Cucurbita ficifolia* (Protein crystallization. Preliminary crystallization of a protease from *Cucurbita ficifolia*). J. A. Martínez Oyanedel, Dpto. Biología Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La determinación de la estructura de macromoléculas biológicas por difracción de rayos-X constituye la técnica más poderosa para la determinación de la estructura a nivel atómico y, por lo tanto, permite correlacionar las propiedades estructurales de la macromolécula, con su función biológica.

Una parte esencial en la aplicación de esta técnica es la obtención de monocristales de la macromolécula, de tamaño y calidad adecuados para su estudio, que requiere una búsqueda, tan sistemática como sea posible, de un rango en que los parámetros individuales favorecen la formación del cristal, y su optimización para obtener el mejor cristal posible para el análisis de rayos-X.

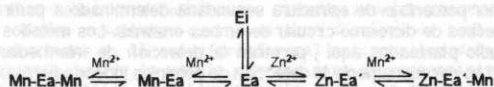
El presente trabajo presenta la implementación básica de un laboratorio de cristalización de proteínas, el desarrollo de una metodología para el estudio de las condiciones de cristalización y la puesta en marcha de las técnicas corrientes: Microdialisis, Gota colgante y gota sentada. Se presentan los resultados preliminares de cristalización de la proteasa de Alcañota, *Cucurbita ficifolia* para mostrar como se puede aplicar la metodología desarrollada, desde la obtención de precipitado amorfo a la obtención de microcristales, presentando las estrategias utilizadas. Esta metodología ha permitido obtener cristales pequeños de la proteína.

Proyecto 91.31.40-1, 91.31.43-1 DIUC.

INTERACCIÓN DE ARGINASA HEPÁTICA HUMANA CON Mn²⁺ Y Zn²⁺ (Interaction of human liver arginase with Mn²⁺ and Zn²⁺). Carvajal, N., Torres, C. y Uribe, A. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Contrariamente a lo supuesto por muchos años, en nuestro laboratorio hemos detectado una especie activa de arginasa hepática humana que no contiene Mn²⁺. Hemos propuesto que, en ausencia del metal, existe un equilibrio entre una forma activa (Ea) y una inactiva (Ei). El Mn²⁺ se uniría a Ea, desplazando el equilibrio hacia las especies activas y, a mayores concentraciones, se uniría a otro sitio de estas especies, "activándolas". En este trabajo, hemos analizado la interacción de la enzima con el Zn²⁺.

A diferencia de la arginasa de *Saccharomyces cerevisiae*, que requiere Zn²⁺ con fines estructurales y Mn²⁺ para la actividad catalítica, por absorción atómica encontramos que la enzima humana sólo contiene 1 Mn²⁺/ subunidad y no contiene Zn²⁺. Además, la estructura de tipo "zinc finger" que presenta la enzima de levadura no concuerda con la secuencia de la enzima humana. Por otro lado, la arginasa humana es inhibida por Zn²⁺ y la enzima inhibida es activada, aunque sólo parcialmente, por el Mn²⁺. Esto ocurre tanto con las especies oligoméricas como con las subunidades y la unión del zinc no altera el peso molecular de ellas. En base a los resultados presentados y estudios previos, se sugiere el siguiente modelo cualitativo:



Proyecto FONDECYT 92-0294

Producción y Estabilización de β -xilanasas extracelulares de *Aspergillus cervinus* 2M1 (Xylanase production and stabilization from *A. cervinus* 2M1). Aguirre, C., Nazal, A., Durán N*, Sposito E*, y Curotto, E. Laboratorio de Bioquímica, U. Católica Valparaíso, Chile. Instituto de Química*, UNICAMP, Brasil. (Patrocinio: G. González-Lira). La industria del papel está interesada en aplicar tecnología enzimática en el blanqueamiento de las pulpas de celulosa, usando β -xilanasas para disminuir la utilización de compuestos clorados; realizando un proceso menos contaminante. El objetivo de este trabajo es producir, inducir, caracterizar y estabilizar β -xilanasas extracelulares de hongos obtenidos de madera del sur de Chile. Quince cepas de hongos con actividad xilanolítica fueron aislados. *A. cervinus* 2M1 fue una de las mejores cepas en la producción de β -xilanasas. Se utilizaron diferentes fuentes de carbono como inductores. Xilano de avena, de abedul y de *Pinus radiata* inducen las mejores actividades: 64, 132, 67 UI/ml respectivamente y con xilosa 70 UI/ml. El extracto crudo no presenta actividades endoglucanasa, papel filtro, ni proteolítica entre el 4º y 5º día de cultivo. Se estudió el efecto del pH y de la temperatura y la estabilidad térmica. Las xilanasas inducidas presentan un pH óptimo entre 5.5 -6.0 y una temperatura máxima 55 °C. La vida media de estas enzimas a 55°C. fueron 11.8 (P. radiata), 7.19(abedul) y 4.38(avena) min. Con agente estabilizante, a igual temperatura la vida media aumentó a 2.58(abedul) y 1.52(avena) hrs. Igual tendencia se observó a 40°C. Dada las características de estos extractos, serán probados en el blanqueamiento pulpas. Agradecimientos. Fundación Andes, DGI UCV, Dr Victoriano Campos y CMPC, Laja.

INTERACCIONES QUE REGULAN EL PLEGAMIENTO HELICOIDAL EN PROTEÍNAS. (Interactions regulating the helical folding in proteins). Hilda Cid y Felipe Gazitúa. Depto. de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Las estructuras helicoidales podrían originar núcleos de plegamiento, durante el proceso de síntesis de la proteína, dado que se acepta que su estabilidad dependería fundamentalmente, de interacciones entre aa relativamente próximos. Un estudio de una muestra de 54 hélices obtenidas de 12 estructuras de proteínas determinadas a una resolución igual o mejor que 2.0Å, empleando 4 métodos de predicción independientes, permite concluir lo siguiente:

-Las hélices anfipáticas (63% de la muestra) pueden ser predichas exitosamente por los 4 métodos de predicción, las interacciones hidrofóbicas, junto a puentes de hidrógeno entre los aa "i" e "i+3" proporcionan la estabilización. Ellas podrían constituir núcleos de plegamiento.

-La estabilización de las hélices no anfipáticas está regulada por la presencia de puentes salinos y/ o de aminoácidos cargados que estabilizan el dipolo helicoidal, además de la presencia de cofactores, puentes disulfuro y cercanía al sitio activo. Estas últimas deberían completar su formación en las etapas finales del plegamiento de la cadena polipeptídica.

-Se discute la influencia de la composición de aa versus la secuencia en el plegamiento de las proteínas.

Proyecto 91.31.43-1 DI, U. de Concepción

ESTABILIDAD DE PROTEÍNAS. EXPERIMENTOS DE DENATURACIÓN-RENATURACIÓN EN β -LACTAMASAS. (Stability of proteins. Denaturation-renaturation experiments in β -lactamases). M. Godoy y M. Bunster. Lab. Biofísica Molecular, Depto. Biología Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 4077 Correo 3 Concepción.

En un intento de detectar dominios independientes en proteínas en solución, se ha estudiado los procesos de denaturación-renaturación de β -lactamasas de *Bacillus cereus* y de *Shigella flexneri*. Para ello se utilizó espectroscopia diferencial UV, espectroscopia de fluorescencia, ensayos de actividad enzimática y electroforesis en gradiente de urea. La hipótesis plantea que es posible detectar intermediarios en el plegamiento de una proteína cuando se obtiene transiciones detectables a través de métodos independientes.

Las β -lactamasas clase A cuya estructura se conoce, presentan una estructura globular organizada en dos dominios discontinuos, de modo que se esperaría un comportamiento de dos estados, en experimentos de denaturación-renaturación. Las dos β -lactamasas estudiadas, de estructura desconocida, y pertenecientes a la Clase A, presentan también un comportamiento de dos estados, lo que avalaría la existencia de una estructura común en enzimas de una misma familia.

La enzima de *S. flexneri* demuestra ser menos estable que la de *B. cereus* en las condiciones de trabajo, hecho explicable por el menor porcentaje de estructura secundaria determinado a partir de espectros de difracción circular de ambas enzimas. Los métodos de estudio planteados aquí, permiten la detección de intermediarios pero no necesariamente la detección de dominios independientes.

Patrocinio: Proyecto DI UdeC 20.31.32

ORGANIZACIÓN DE LOS GENES DE ISOTOCINA DEL PEZ TELEOSTEO *Catostomus commersoni*. (Organization of the isotocin genes from the teleost fish *Catostomus commersoni*).

Figueroa, J., Richter, D. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Institut für Zellbiochemie und klinische Neurobiologie, Universität Hamburg, Hamburg, Alemania. (Patrocinio: Dr. L. Burzio).

Los genes de oxitocina y vasopresina han sido caracterizados en varias especies de mamíferos y ambos genes son altamente conservados confirmando teorías preliminares que predicen el origen desde un ancestro común. Cada gen comprende 3 exones separados por 2 intrones y codifican para las unidades funcionales de la poliproteína. Cada especie de vertebrado posee un péptido representativo de cada tipo de hormona.

En estos peces se encuentra presente Isotocina ([Ser⁴], [Ile⁸]-oxitocina de la cual sólo se conoce la secuencia peptídica de la hormona. Resulta por tanto de la mayor importancia conocer la secuencia del precursor y su organización génica. Con este fin, se rastreó una biblioteca de cDNA de núcleos preópticos, con oligonucleótidos sintéticos encontrándose 4 clones. Se secuenciaron por el método de Sanger y se analizó la secuencia, estructura y organización de los precursores. Se encontraron características conservadas con respecto a mamíferos en todas las unidades polipeptídicas funcionales de la poliproteína (péptido señal, hormona, neurofisiña) observándose además la presencia de una neurofisiña más larga de lo normal, presentando características del copeptin presente en la familia tipo vasopresina, aunque carece de la típica secuencia de glicosilación (NAT). Paralelamente se realizó análisis de Northern-blots para evaluar la expresión y Southern-blot para el estudio del número de genes, así como el polimorfismo. Posteriormente se construyó una biblioteca genómica parcial en el vector λ Zap II digiriendo DNA genómico con Eco RI. Como sonda se empleó los precursores ya caracterizados, marcados con α^{32} P-dCTP. El hallazgo de clones permitió la secuenciación, comparación con los precursores, análisis de la organización génica, uniones exon-intron, tetraploidia y polimorfismo típico de estos peces.

Reprogramación de la expresión de genes ribosomales durante la aclimatación de *C. carpio*. (Ribosomal RNA gene expression reprogramming during the acclimatization of *C. carpio*). Vera, M.I. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. (Patrocinio: Dr. M. Krauskopf).

El ambiente acuático en que habita el pez *C. carpio* está sometido a cambios cíclicos estacionales a los que este ectotermo euritermal debe adaptarse. Resultados previos obtenidos en nuestro laboratorio nos han llevado a postular que el proceso de aclimatación involucra, entre otros aspectos, una reprogramación de la expresión génica. En particular, nuestra hipótesis de trabajo sostiene que esta reprogramación afecta también a los genes ribosomales de la carpa.

La cantidad de rRNA sintetizada por los hepatocitos disminuye notoriamente en invierno. Se observa además, en cortes ultrafinos de hígado proveniente de carpas aclimatizadas a invierno, que los constituyentes nucleolares están completamente segregados, no así en verano, donde éstos aparecen totalmente integrados.

El estudio de la regulación de la expresión de genes ribosomales de carpa durante aclimatación, ha sido abordado a través de tres aspectos:

i) actividad RNA polimerásica en núcleos aislados de hepatocitos de peces adaptados a ambas condiciones de aclimatación. Esta se midió en ensayos con y sin α -amanitina. No se observó diferencias significativas en la transcripción mediada por RNA pol I.

ii) estudio *in situ* de la transcripción mediante la técnica de RNasa-oro coloidal en cortes ultrafinos de hígado de carpas aclimatizadas a invierno y verano. Los resultados indicaron que existen diferencias semicuantitativas consistentes con la reprogramación de la expresión génica, especialmente a nivel nucleolar, entre ambos estados adaptativos.

iii) clonamiento de genes ribosomales. Se aisló un gen conteniendo secuencias de rDNA a partir de una biblioteca genómica. Se determinó el mapa de restricción del inserto (aprox. 12 kb) y se subclonó uno de sus extremos (4.4 kb) en pUC19. Este subclon (pCRR 4.4) ha sido parcialmente secuenciado en ambos extremos. Los más de 600pb identificados fueron comparados con las secuencias conocidas de los genes de rRNA de *Xenopus* no encontrándose homologías suficientes. Se continuará secuenciando para ubicar los genes de rRNA e identificar posteriormente, río arriba del extremo 5' del precursor, las regiones *cis* que estén implicadas en la regulación de su expresión y compararlas con las de otras especies de ectotermos. Proyectos FONDECYT 007/90 y D/D-UACH S-90-15.

IDENTIFICACION DE RENIBACTERIUM SALMONINARUM POR LA REACCION DE LA POLIMERASA EN CADENA. (Identification of *Renibacterium salmoninarum* by a polymerase chain reaction assay). León, G y Krauskopf, M.. Instituto Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La capacidad de amplificar secuencias específicas de DNA ha transformado la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) en una herramienta importante no sólo en investigación sino también en el diagnóstico y detección de enfermedades genéticas e infecciosas.

En nuestro laboratorio se desarrolló un método basado en la reacción de PCR para la detección de *Renibacterium salmoninarum*, el agente etiológico de la enfermedad bacteriana del riñón (BKD) en salmonídeos. Se logró la amplificación específica de un segmento de 149 pares de bases del DNA del microorganismo causal de BKD, segmento que previamente había sido caracterizado como único del genoma de la bacteria. La identificación inequívoca de la secuencia amplificada se realizó por experimentos de hibridación en Southern del producto de la reacción de PCR, utilizando la sonda no radiactiva.

Empleando el DNA purificado de *R. salmoninarum* como templado, hemos logrado detectar a través de la reacción de amplificación génica, una cantidad de DNA equivalente al contenido de 22 células bacterianas. No obstante, modificaciones de la técnica, actualmente en progreso en el laboratorio, permiten anticipar un límite de sensibilidad de aproximadamente una célula bacteriana.

El método se aplicó con éxito para identificar directamente el agente responsable de BKD en muestras de tejido renal de peces infectados, las que previamente fueron extraídas con Chelex 100. Además, se identificó la presencia del microorganismo en tejido renal de peces en los que otros métodos, como IFAT y ELISA, habían sido negativos. El procedimiento es altamente reproducible y ventajoso para el diagnóstico de BKD, indicando su potencialidad para ser utilizado como un probable método de monitoreo de poblaciones de peces con el fin de detectar portadores de la enfermedad. Financiado por proyecto Fondecyt 190/92 y D/D-UACH S/93-22.

POSIBLE ROL DE LOS CANALES DE K⁺ SENSIBLES A LA APAMIN EN LA DISTROFIA MIOTONICA. (Possible role of apamin-sensitive K⁺ channels in myotonic dystrophy).

Behrens M.I., Jalil P., Serani A., Latorre R., Vergara F., Servicio de Neurología Hospital Sótero del Río, Centro Scanner, Facultad de Ciencias Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

La distrofia miotónica es una enfermedad genética caracterizada principalmente por atrofia muscular y miotonía, una actividad eléctrica repetitiva del músculo. En el presente estudio, se investigó el posible rol de los canales de K⁺ sensibles a apamina en la génesis de la miotonía en esta enfermedad. La apamina es un péptido de veneno de abeja, que bloquea específicamente los canales de K⁺ de baja conductancia activados por Ca²⁺. La inyección de 30 μ l de apamin 10 μ M en los músculos de la eminencia tenar de pacientes con distrofia miotónica indujo una disminución de la actividad eléctrica basal en los 6 pacientes estudiados y la descarga de ráfagas miotónicas se hizo más difícil de lograr en 5 de estos pacientes durante el registro electromiográfico. En dos controles y en dos pacientes con miotonía generalizada, así como también en uno con miotonía congénita (donde el defecto está en los canales de Cl⁻), la apamina no tuvo efecto. Estos resultados sugieren que los canales de K⁺ sensibles a apamina, entre otros canales, participan en el mecanismo de generación de la miotonía en la distrofia miotónica.

Este trabajo se financió con fondos de FONDECYT 296-1989 y Copec Chile.

CAMBIO DE LA SUPERFICIE EPITELIAL UTERINA INDUCIDO POR EL DL-PROPRANOLOL (Changes in de uterine epithelial induce by DL-propranolol). Morales, E.A. y Bruzzone, M.E. Unidad de Reproducción, Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, U. de Chile.

En trabajos anteriores se ha demostrado que los antagonistas β -adrenérgicos, DL-propranolol y butoxamina inhiben la implantación cuando son administrados localmente el día 1 de la preñez. La implantación es un proceso en el cual debe existir una interacción y reconocimiento superficial entre el blastoquiste y las microvellosidades (y glicocalix) del epitelio superficial endometrial. Por este motivo se estudia el efecto del DL-propranolol en la superficie luminal del epitelio uterino.

Se utilizaron ratas cepa Sprague-Dawley durante el período peri-implantación (4-4.5-5-6 días de preñez; n = 2/día) las que fueron instiladas con DL-propranolol (10 mg/ml) en el cuerno uterino derecho y suero fisiológico en el cuerno uterino izquierdo de control.

Se tomaron muestras de cada cuerno uterino en los días estudiados, se fijaron en glutaraldehído y se procesaron para su observación en microscopio de barrido.

Entre los 4 y 5 días de preñez los cuernos controles presentan células con abundante microvellosidades gruesas y largas. No se reconocen los límites celulares. A los 6 días se observaron blastoquistes implantados. En los animales tratados entre los 4 y 5 días las células presentan su superficie apical lisa con un menor número de microvellosidades cortas y delgadas, a los 6 días no se observaron blastoquistes implantados.

Estos resultados nos permiten suponer un rol muy importante a la superficie apical (microvellosidades y glicocalix) de la célula uterina para el reconocimiento e implantación del blastoquiste, pues las modificaciones de estas estructuras inducidas por el DL-propranolol impiden la implantación.

Proyecto Fondecyt 92/924.

ESTUDIOS DE MIOGENESIS CARDIACA POR HIBRIDACION *IN SITU*. (Cardiac myogenic studies by *in situ* hybridization). Zárraga, A.M., Goicoechea, O.G.* y Siddiqui, M.A.Q.**. Inst. Bioquímica, Inst. Embriología*, Fac. Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia y **Anatomy and Cell Biology Dept., Health Science Center, SUNY, Brooklyn, N.Y. USA. (Patrocinio: Dr. R. Amthauer)

Diversos tipos de mioblastos y fibras musculares se forman durante el desarrollo de vertebrados. Estos aparecen en distintas etapas de la embriogénesis, migran a las regiones formadoras de músculo del embrión, fusionándose para formar fibras musculares multinucleadas. Al respecto, se ha propuesto que las células del mesodermo adquieren un compromiso durante el desarrollo embrionario temprano para diferenciarse a mioblastos, y posteriormente, madurar como miofibras. A nivel molecular, estos eventos de diferenciación van acompañados de la acumulación de transcritos de proteínas musculares sugiriendo un complejo mecanismo de control de la expresión de los genes correspondientes.

La formación y desarrollo del sistema muscular de corazón representa un sistema ideal para el estudio de regulación génica, ya que el tejido cardíaco es uno de los primeros en diferenciarse, precediendo a la somitogénesis y formación del tejido esquelético. Al respecto, la expresión fisiológica del gen que codifica para la cadena liviana de miosina cardíaca (MLC₂) se encuentra restringida a células de corazón en estadios avanzados del desarrollo, desconociéndose su funcionamiento en etapas más tempranas.

Para responder esta interrogante, en este trabajo presentamos experimentos de hibridación *in situ* de cortes de tejido embrionario de pollo en el estado 11 y 19 del desarrollo. Hemos utilizado ³⁵S-ribosomas derivados del gen homólogo de rata así como oligonucleótidos marcados con digoxigenina, cuyas secuencias son complementarias al exón 1 del gen MLC₂. Los resultados demuestran que este gen se expresa tanto en tejido cardíaco como en la porción miotomal del somito, previo a la diferenciación muscular de la fibra. Este hallazgo permite utilizar la expresión del gen MLC₂ como marcador tanto del tejido muscular estriado como también de las etapas tempranas de la miogénesis. Financiado por: John D. and Catherine Mac Arthur Foundation-AAAS y Proyecto DID UACH S-92/91.

INTERACCION DE FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA DE RIÑON DE CERDO CON SONDAS FLUORESCENTES. (Pig kidney fructose 1,6-bisphosphatase interaction with fluorescent probes). Ludwig, H., Yañez, A., y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) es regulada por inhibiciones por fructosa-2,6-bisfosfato (Fru-2,6-BP) y AMP, presentándose un sinergismo entre ambos efectos. La naturaleza de la inhibición por Fru-2,6-BP es controvertida en relación a si la enzima presenta un sitio alostérico para este inhibidor o contrariamente Fru-2,6-BP se une al sitio activo. En nuestro laboratorio se ha demostrado que la modificación selectiva del residuo Cys-128 con reactivos voluminosos afecta la inhibición de la enzima por Fru-2,6-BP, sin alterar el valor del K_m para Fru-1,6-BP, lo que indica que la interacción de ambos azúcares con la enzima es diferente (Reyes, A., Bravo, N., Ludwig, H., Inarte, A., y Slebe, J.C. *J. Prot. Chem.* **12**, 159-168 (1993)). Con el propósito de estudiar esta interacción y la polaridad del entorno de la cisteína, se utilizaron dos diferentes fluoróforos: FMP, análogo estructural de AMP e inhibidor de la enzima y el grupo AEDANS. Se trató FBPasa con I-AEDANS, observándose una incorporación de 0,9 grupos AEDANS por subunidad de la enzima. La enzima modificada conservó inalterada la actividad específica así como la inhibición por AMP, mientras que fue prácticamente insensible a Fru-2,6-BP. En el análisis por HPLC de los péptidos tripticos del derivado carboximetilado se detectó una señal fluorescente mayoritaria cuya posición sugiere una marcación del residuo Cys-128. El derivado FBPasa-AEDANS permitió determinar que la polaridad del microambiente del fluoróforo unido a la enzima es similar a la de una solución de 40% etanol en agua. Por otra parte, se estudió la unión de FMP a FBPasa, midiendo el aumento de la intensidad de la banda de emisión del fluoróforo. Se encontró que la unión de FMP es un fenómeno cooperativo, y que Fru-2,6-BP, Fru-1,6-BP y Fru-6-P hacen aumentar la afinidad de la enzima por el nucleótido, mientras que el sustrato alternativo Fru-1-P no presenta este efecto. Los resultados apoyan la existencia de un "dominio de unión" para fructosas bisfosfatos, que podría acomodar tanto el Fru-1,6-BP como el Fru-2,6-BP, pero con algunos determinantes de unión diferentes. (FONDECYT 92-150 y DID-UACH S-92-40).

EL PROTEOGLICAN DECORINA ES SOLUBILIZADO ESPECIFICAMENTE POR HEPARINA DESDE LA MATRIZ EXTRACELULAR DE MUSCULO ESQUELETICO DE RATA. (Decorin is specifically solubilized by heparin from the extracellular matrix of rat skeletal muscles). Melo, P. y Brandao, E. Unidad de Neurobiología Molecular, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La matriz extracelular (MEC) está compuesta de diversas glicoproteínas, colágenos y proteoglicanos (PGs). Estos últimos corresponden a macromoléculas formadas por una proteína central a la cual se le unen de manera covalente cadenas de glicosaminoglicanos sulfatados (GAGs). En trabajos previos hemos demostrado la presencia de varios PGs en la MEC obtenida de músculo esquelético de rata. Entre los cuales destaca un PG de dermatán sulfato denominado decorina. El nivel de expresión de este PG está fuertemente influenciado por la presencia del nervio motor. Además, decorina presenta la capacidad de unirse a moléculas de colágeno, fibronectina y al factor de transformación de tipo beta (TGF-β). Previamente hemos demostrado que el GAG heparina co-solubiliza desde MEC de músculo esquelético la enzima acetilcolinesterasa (AChE) y un material sulfatado con características de PG. El objetivo de este trabajo fue determinar las características moleculares de este PG.

Para esto una fracción enriquecida en MEC provenientes de músculo esquelético de rata, previamente inyectadas con sulfato radioactivo, fue solubilizada con heparina. El material solubilizado fue fraccionado en columnas de exclusión molecular (Sephacosa CL-4B) previo tratamiento con enzimas degradativas de GAGs. Los análisis de estos resultados sugieren que el PG solubilizado corresponde a uno de condroitín/dermatán sulfato. La determinación de la proteína central junto a la inmunoprecipitación específica de este PG con anticuerpos contra decorina indican que el PG solubilizado desde la MEC muscular corresponde inequívocamente a decorina.

Estos resultados indican que en la MEC de músculo esquelético el PG decorina estaría interactuando con PGs de heparán sulfato y en alguna forma con la enzima AChE.

(Financiado por FONDECYT 565-93 e IPR 1407/2).

PLEGAMIENTO *IN VITRO* DE LAS FORMAS PRECURSORA Y MADURA DE UNA PROTEÍNA MITOCONDRIAL (*In vitro* refolding of precursor and mature forms of a mitochondrial protein). Alejandro M. Reyes, Ana Iriarte y Marino Martínez-Carrón. School of Biological Sciences, University of Missouri-Kansas City, Kansas City, USA e Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

La aspartato aminotransferasa mitocondrial (mAspAT), proteína dimerica dependiente de piridoxal 5'-fosfato (PLP), es codificada por el genoma nuclear y sintetizada en el citoplasma como una proteína precursora (pmAspAT). Esta contiene un péptido de señal de 29 residuos en el extremo amino terminal, el cual es esencial para su encauzamiento e importe en la mitocondria. Se ha propuesto que el plegamiento de proteínas mitocondriales puede ser asistido por chaperonas, y también que la secuencia líder puede afectar el plegamiento del componente maduro de la proteína. En lisados de reticulocitos se ha descrito que pmAspAT recién sintetizado se pliega y une PLP lentamente [Mattingly, J.R., Youssef, J., Iriarte, A. y Martínez-Carrón, M. (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 3925-3937]. Dada la disponibilidad de las pmAspAT y mAspAT de hígado de rata como proteínas recombinantes catalíticamente activas, estudiamos el plegamiento *in vitro* de ambas formas para analizar el efecto de la presecuencia sobre el plegamiento en ausencia de otros componentes celulares.

Después de desnaturación en guanidina-HCl 4 M (21 °C, pH 7,5), la renaturación se siguió por cambios en actividad enzimática, fluorescencia y diroismo circular. Tanto pmAspAT como mAspAT se reactivan eficientemente luego de dilución rápida del agente desnaturante a bajas concentraciones de proteínas (rendimiento ~60% a c = 40 µg proteína/mL). Las transiciones de desnaturación / renaturación en equilibrio y las cinéticas de plegamiento son idénticas e independientes de la concentración para ambas formas de la proteína. El plegamiento está determinado por dos isomerizaciones lentas; la dimerización es muy rápida. La unión de PLP al sitio activo ocurre en una etapa tardía del proceso, sugiriendo que la coenzima no dirige el plegamiento de estas proteínas. Estos resultados indican que *in vitro* el plegamiento de mAspAT no es regulado o influenciado por la presencia de la presecuencia. Asimismo, el plegamiento *in vitro* es más rápido que el de la proteína recién sintetizada en lisado de reticulocitos, lo que apunta a la probable influencia de factores citosólicos que modulan el plegamiento de la proteína en la célula.

PLASMINOGENO Y ACTIVADOR DEL PLASMINOGENO MEDIAN LA CAPACIDAD INVASIVA DE CELULAS LEUCEMICAS. Plasminogen and Plasminogen Activator mediate the invasive capacity of leukemic cells.

Martínez J., Santibáñez J.F. y Silva S. Unidad de Biología Celular, INTA, U. de Chile.

El Activador del Plasminógeno similar a uroquinasa (u-AP) es una proteasa que cataliza la transformación de Plasminógeno en Plasmina, y que juega un importante papel en los procesos degradativos de moléculas de matriz extracelular (MEC) que median la invasión tumoral.

En nuestro laboratorio hemos descrito la degradación de colágeno intersticial de MEC de estroma de médula ósea de ratón por parte de una procólagenasa asociada a la membrana de la línea celular leucémica WEHI-3B, activable por Plasmina generada por la actividad de u-AP.

En la presente comunicación damos cuenta de la existencia a nivel pericelular de sitios de unión específicos para u-AP como también de similares sitios de ligamen para Plasminógeno. En el caso de este último, se analiza la importancia de su unión específica a Colágeno tipo I. Se discute el significado funcional de la posible asociación de vecindad entre la enzima activadora (u-AP), la enzima activable (colagenasa) y el principal sustrato de la reacción (Plasminógeno).

Financiamiento de Fondecyt N°1930904

ANALISIS DEL CONTROL DE UN SISTEMA METABOLICO SIN SABER LAS PROPIEDADES CINETICAS DE LAS ENZIMAS COMPONENTES. (Analysis of the control of a metabolic system without knowing the kinetic properties of the component enzymes). Cornish-Bowden, A., Laboratoire de Chimie Bactérienne, CNRS, Marseille, Francia, y Hofmeyr, J.-H. S., Department of Biochemistry, University of Stellenbosch, Sudáfrica.

La teoría de control metabólico iniciado por Kacser y Burns en 1973 ha demostrado ser muy útil para analizar el control de sistemas metabólicos. Una idea importante de esta teoría es que la eficiencia de control es distinta de la existencia de mecanismos de control, es decir debemos analizar la eficiencia en términos de la respuesta a un estímulo y no en términos de los mecanismos que existen. Por ejemplo, en bacterias como *Escherichia coli* la síntesis de la serina es inhibida por la serina, pero esta retroinhibición no existe en los mamíferos; esto no implica, sin embargo, que la síntesis esté bien regulada en bacterias y que no lo esté en mamíferos. Para llegar a una conclusión válida, uno necesitaría saber de qué manera la velocidad de síntesis de serina en mamíferos responde a cambios en la demanda de utilización de serina. Sin embargo ha sido muy difícil en la práctica establecer la estructura de control de un sistema, debido a la necesidad de conocer las características cinéticas de todas las enzimas que componen dicho sistema, lo que implica una cantidad enorme de trabajo. Recientemente hemos solucionado este problema, pues hemos desarrollado la matriz de coeficientes de co-respuesta, cada uno de los cuales expresa la forma en que dos variables del sistema completo (por ejemplo un flujo y una concentración de intermediario) responden simultáneamente a una misma perturbación. Esta matriz puede ser transformada en una matriz de coeficientes de control.

INCAPACIDAD DE LA CANALIZACION DE SUSTRATOS PARA DISMINUIR LA CONCENTRACION DE METABOLITOS LIBRES (Inability of channelling to decrease free metabolite concentrations). Cárdenas, M. L. y Cornish-Bowden, A., Laboratoire de Chimie Bactérienne, CNRS, Marseille, Francia.

Se denomina canalización de sustratos a la transferencia directa del producto de una enzima al sitio activo de otra que lo utiliza como sustrato, sin que se produzca difusión al seno de la solución. La existencia de este fenómeno en complejos enzimáticos transitorios o de asociación débil es muy controvertida, pero el tema presenta gran interés debido a las posibles ventajas fisiológicas de la canalización. Una de las ventajas comúnmente atribuida es la disminución de la concentración libre del intermediario catalizado en función del grado de canalización, lo que evitaría problemas derivados de la limitada capacidad de solvente de la célula.

En este trabajo se demuestra algebraicamente que en condiciones de flujo constante, la canalización de intermediarios no afecta la concentración libre de éstos, independientemente del número de metabolitos canalizados y del tipo de complejo enzimático implicado. Los resultados que sugieren que la canalización puede disminuir el pool de intermediarios libres en condiciones de flujo constante son artefactos derivados de condiciones en que hay variación de flujo (es decir el flujo no es realmente constante), o hay alteraciones en direcciones opuestas de las actividades de las enzimas relevantes ("cross-over effect").

RELACION ENTRE MORFOGENESIS DE GLANDULAS GASTRICAS Y SULFATACION DE LOS PROTEOGLICANOS. (Relation between gastric glands morphogenesis and sulfation of proteoglycans) Koenig C.S., Nuñez R., Muñoz A. y Dabiké M., Dpto de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Durante la morfogénesis de glándulas gástricas de pollo, se modifica la matriz extracelular vecina a los tubos epiteliales. Un aumento en la síntesis de condroitín y heparán sulfato es previa a la formación de los tubos glandulares secundarios y a la diferenciación de las células oxínticas.

El rol de los PGs de la matriz en la morfogénesis glandular y la diferenciación de las células oxínticas, se estudió inhibiendo la sulfatación de los PGs, por administración de clorato de sodio, (Humphries and Silbert (1966) B.B.R.C 164:365-371), a huevos embrionados desde el día 10 de desarrollo. Los estómagos se analizaron por a: caracterización histoquímica de PGs. b: cuantificación de enzimas marcadores de células oxínticas. c: tinción citoquímica de enzimas marcadoras y d: ultraestructura de células epiteliales.

La inhibición de la sulfatación de PGs en la etapa en que crecen los tubos primarios y proliferan las células que originarán los tubos secundarios (d10 a13) produce citodiferenciación atípica del epitelio del tubo primario acompañada de bloqueo de la proliferación celular. En la etapa en que ocurre crecimiento y citodiferenciación de los tubos secundarios (d11 a14) se inhibe la morfogénesis del tubo glandular y la diferenciación de las células oxínticas. Se demuestra que la sulfatación normal de los PGs juega un rol en la regulación de los procesos morfogénéticos del folículo gástrico.

PROYECTO FONDECYT 769/89

PARRAGUEZ Y BENEZET LTDA.

Artículos para Laboratorios

NUNC	: Plásticos para cultivo, Tubos Criogénicos.
MFS	: Membranas de Filtración. Equipos.
BIO-RAD	: Electroforesis, Transferencia, Secuenciación, Equipos y Reactivos.
E-C	: Fuentes de Poder.
SIGMA	: Reactivos e Insumos.
TAYLOR-WHARTON	: Envases Criogénicos.
A.R.C.	: Radioquímicos, 35S, 3H, 32P, 14C.
NEW ENGLAND BIOLABS	: Enzimas de Restricción.
EPPENDORF	: Micropipetas, Repipeteadores y Microcentrífugas
METERTECH	: Lector de ELISA, Espectrofotómetros.
DENVER INSTRUMENT	: Balanzas Analíticas y Granatarias.
FOTODYNE	: Transiluminador y Cámaras fotográficas.
NUAIRE	: Incubadores de CO2, Gabinetes de Seguridad Biológica y Campanas de Flujo Laminar.
NIKON	: Microscopios y TMS
DRUMMOND	: Pipet AID

SANTA JULIA 320 ÑUÑO A SANTIAGO

FONO 2743432 -FONO/FAX 2747318



EDUARDO PÉREZ Y CÍA. LTDA.

INSTRUMENTOS CIENTÍFICOS

VALENZUELA CASTILLO 1200 - SANTIAGO - CHILE

FONOS: 2 360 300 - 2 358 928 - FAX: 5 6(2) 2359978 TELEX: 340412 PBVTR CK

MICROSCOPIOS
BALANZAS
DESTILADORES
ESTUFAS

AGITADORES
BAÑOS DE AGUA
MEDIDORES DE pH
HORNOS/MUFLA

REFRACTÓMETROS
TERMÓMETROS
ROTAVAPORES
CENTRÍFUGAS

INDICE

- Accatino, L. 25
 Acosta, A.M. 24
 Aguayo, J. 27
 Aguirre, C. 34
 Alvarez, J. 19
 Allende, J.E. 27
 Amigo, L. 25
 Amthauer, R. 32
 Andrade, W. 21
 Andrés, M.E. 21
 Antonelli, J. 28
 Araya, M. 30
 Arbildua, J. 18
 Arias, J.L. 30
 Arteaga, A. 24
 Barredo, F. 20
 Barriga, C. 24
 Barriga, F. 21
 Bazáes, S. 26
 Becker, M.I. 19, 20, 27
 Behrens, M.I. 35
 Berti, M. 29
 Bertin, P. 21
 Blanco, C. 32
 Brandan, E. 36
 Brink, L. 32
 Briones, A. 31
 Brito, M. 28
 Bronfman, M. 24
 Bruzzone, M.E. 35
 Bunster, M. 34
 Burzio, L. 28
 Bustamante, J. 31
 Bustos, D. 33
 Bustos, G. 21
 Cárdenas, L. 24
 Cárdenas, M.L. 37
 Cabrera, M.E. 21
 Campbell, M. 21
 Campos, E.O. 23
 Campos, R., 30
 Caplan, A.I. 30
 Cardemil, E. 26, 29
 Carrino, D. 30
 Carvajal, N. 33
 Castro, A. 18
 Castro, C. 24
 Catalán, L. 24
 Céspedes, R. 21
 Cid, H. 34
 Collados, L. 31
 Concha, I.I. 28
 Concha, M. 22
 Conget, P. 20
 Connelly, C. 27
 Cornish-Bowden, A. 37
 Curotto, E. 34
 Chayet, L. 31
 Chiong, M. 31
 Chronwall, B. 28
 Dabiké, M. 37
 De Ioannes, A. 19, 20, 27
 Delgado, F. 28
 Durán, N. 34
 Díaz, M. 20
 Edwards, A.M. 19, 20
 Egaña, L. 32
 Elizalde, J.J. 27
 Erazo, S. 26
 Erices, A. 33
 Eyzaguirre, J. 32
 Fürst, S. 19
 Faúndez, V. 22
 Fernández, M.S. 30
 Ferrada, D. 22
 Figueroa, C. 25
 Figueroa, J. 34
 Figueroa, P. 28
 Flores, H. 26
 Foradori, A.C. 26
 Forray, M.I. 21
 Frey, P.A. 29
 Gárate, M. 30
 Galanti, N. 28
 Galleguillos, M. 31
 Ganga, A. 30
 Garrido, A. 30
 Gatica, M. 27
 Gazitúa, F. 34
 Gerber, L. 32
 Godoy, M. 34
 Goicoechea, O.G. 36
 Goldie, H. 26
 González, A. 22
 González, B. 20
 González, C. 18
 González, G. 32, 33
 González, S. 19
 González, C. 33
 Guasch, V. 24
 Guzmán, S.K. 19
 Gysling, K. 21
 Herrera, R. 23
 Hidalgo, P. 24
 Hofmeyr, J.H.S. 37
 Imarai, M. 19
 Inestrosa, N.C. 23
 Iriarte, A. 36
 Iturrieta, J. 18
 Izquierdo, L. 22, 23
 Jabalquinto, A.M. 26
 Jalil, P. 35
 Jamett, A. 20, 27
 Jedlicki, A. 27
 Jerez, C. 27
 Juica, F. 27
 Kawada, M.E. 25
 Kettlun, A.M. 31
 Kodukula, K. 32
 Koenig, C. 37
 Krauskopf, M. 35
 Krautwurst, H. 29
 Lagos, R. 18
 Larraín, J. 29
 Latorre, R. 35
 Leal, J. 27
 Legues, M.E. 21
 Leighton, F. 23, 24
 León, G. 35
 Lobos, S. 29
 Lorca, C. 22
 Ludwig, H. 36
 López, M.L. 22
 Mancilla, A. 22
 Mancilla, M. 31
 Mansilla, J. 28
 Marcus, F. 29

Marti, G. 21
 Martínez, A. 24
 Martínez, J. 18
 Martínez, J., 37
 Martínez, J.A. 33
 Martínez-Carrión, M. 36
 Matus, V. 20
 Melo, F. 36
 Meneses, P. 26
 Merino, P. 33
 Minguell, J.J. 20, 31
 Miquel, A. 24
 Monasterio, O. 18
 Moraga, P. 18
 Morales, B.A. 35
 Morales, M.N. 24
 Moreno, R. 19
 Moreno, R.D. 23
 Munguía, M.E. 26
 Munizaga, A. 37
 Nathenson, S.G. 19
 Nazal, A. 34
 Nervi, F. 25
 Nieto, S. 30
 Nualart, F. 24
 Núñez, R. 37
 Núñez, L. 25
 Núñez, M.T. 18
 O'Reilly, S. 26
 Olate, J. 28
 Osuna, J. 26
 Palma, B. 26
 Pérez, L.M. 31
 Pey, R. 23
 Pizarro, M. 25
 Pollak, F. 24
 Pratt, B. 28
 Preller, A. 27
 Puglielli, L. 25
 Retamal, C. 22
 Reyes, A. 36
 Richter, D. 34
 Rigotti, A. 25
 Risueño, C. 21
 Robledo, M. 26
 Rodríguez, S. 23
 Rodríguez, E.M. 24

Rodríguez, J.P. 30
 Rojas, E. 30
 Rojas, L. 24
 Roseblatt, M. 18
 Sáez, D. 32
 Salas, A. 18
 Salas, L. 29
 Sanhueza, J. 30
 Sans, J. 22
 Santibáñez, J.F. 37
 Santos, M.J. 25
 Seeger, M. 18, 27
 Serani, A. A. 35
 Siddiqui, M.A.Q. 36
 Silva, E. 19, 20
 Silva, M.A. 31
 Silva, R. 26
 Silva, S. 37
 Silva, T. 28
 Slebe, J.C. 32, 36
 Soberón, X. 26
 Solari, A. 25
 Solís de Ovando, F. 24
 Solís, N. 25
 Sposito, E. 34
 Steiner, J. 32
 Tapia, G. 32, 34
 Tapia, J. 29
 Toro, G.C. 28
 Torres, C. 33
 Traverso-Cori, A. 31
 Udenfriend, S. 32
 Uribe, A. 33
 Urrea, R. 24
 Urzúa, J. 22
 Valenzuela, A. 30
 Valenzuela, M.A. 31
 Valiente, A. 29
 Vega, E. 33
 Venegas, J. 25
 Vera, M.I. 35
 Vergara, F. 35
 Viadiu, H. 26
 Vicuña, R. 21, 29
 Vollrath, V. 19
 Wielandt, A. 19
 Wilson, J.E. 27

Yañez, A. 28
 Yañez, A. 36
 Yudelevich, A. 27
 Zárraga, A.M. 36.

Espectrofotómetro

SPECTRONIC® GENESYS™ 5



MILTON ROY

Análisis automatizado de muestras múltiples

- Incluye un portaceldas automático de 8-posiciones.
- Resultados expresados en impresora interna opcional o en una impresora externa.



EQUILAB

EQUIPOS PARA LABORATORIOS

SANTIAGO

SAN ISIDRO * 1839- CASILLA 66-3

FONO: 5569974-FAX: 5514006

CONCEPCION

ANIBAL PINTO * 560 OF. 44

FONO: 242740

ANTOFAGASTA

SUCRE * 484 OF. 2

FONO: 251704

VALPARAISO

INDEPENDENCIA * 2034

FONO: 252663

EMPRESAS RIVAS POR MAS DE 33 AÑOS AL SERVICIO DEL QUEHACER CIENTIFICO

ARTICULOS PARA LABORATORIO GUILLERMO RIVAS S.A.

Proveedores de Reactivos P.A.- Papel Filtro para Cromatografía y Analíticos

Material de vidrio- Material Plástico - Equipos e Insumos en General .

CARLOS E. RIVAS PADILLA

Proveedor de Reactivos para Electroforesis - Homogenizadores de Tejidos

Baños Inmersores- Columna HPLC- Filtros para Cromatografía Gaseosa

Kit para detectar Micotoxinas, BKD, Residuo de Carne Animal, etc...

Rosas * 1463, 2º Piso Of. B. Fonos Fax 6080604-6990244-6970805 Casilla 1631

Correo Central Santiago

AVANCES DE TESIS II

Viernes 27 de agosto de 1993

10:30 Michea., Acevedo.L., Lagos N. (Depto. Fisiología y Biofísica Facultad de Medicina). Rol de la proteína intrínseca principal (MIP) en la fisiopatología de la catarata.

AVANCES DE TESIS II

Viernes 27 de agosto
10:30

ROL DE LA PROTEINA INTRINSECA PRICIPAL (MIP) EN LA FISIOPATOLOGIA DE LA CATARATA. Michea Acevedo. L., Lagos N. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El lente de los vertebrados es un sincicio formado mayoritariamente por células llamadas fibras del lente. Las membranas plasmáticas de las fibras poseen estructuras especializadas denominadas junturas de membrana. En el lente catarático existen alteraciones del equilibrio osmótico y metabólico. Los mecanismos fisiopatológicos de este proceso son desconocidos. Una posible explicación podría involucrar a las proteínas intrínsecas que forman parte de los componentes moleculares constitutivos de las junturas.

MIP es la proteína intrínseca de membrana mas abundante de las junturas. Su función es desconocida. MIP se incorpora a bicapas planas formando canales voltaje dependientes. Su estructura primaria es compatible con la de una proteína formadora de canal y permitiría la intercomunicación celular. A diferencia de las conexinas, MIP se encuentra localizada sólo en una de las membranas de las que forman la juntura. Otra función sugerida para MIP sería mantener la adhesión de las membranas de la juntura, colapsando el espacio intercelular.

Se presentarán estudios en relación a la purificación de MIP, su estructura y función como molécula promotora de adhesividad.

Financiados por proyectos FONDECYT 1096-91 y DTI B3245-9015. L. Michea Acevedo., alumno doctorado en Ciencias Biomédicas, Fac. Medicina, U. de Chile, becado FONDECYT, finaciado por proyecto FONDECYT para estudiantes de doctorado 2930001 y financiamiento de tesis de post grado de la Universidad de Chile.
