



**XXVIII REUNION ANUAL DE LA
SOCIEDAD DE BIOQUIMICA
Y BIOLOGIA MOLECULAR DE
CHILE**

9 - 12 de Enero de 2006
TALCA
CHILE

XXVIII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE CHILE

9-12 de Enero de 2006

CENTRO DE CONFERENCIAS
PASO PEHUENCHE
UNIVERSIDAD DE TALCA
TALCA
CHILE

Directorio:

Presidente.....	Dr. Claudio Vásquez
Presidenta anterior.....	Dra. Luz María Pérez
Vicepresidente.....	Dr. Xavier Jordana
Secretaria.....	Dra. M Antonieta Valenzuela
Tesorero.....	Dr. Marco Alvarez
Directores	
Santiago.....	Dra. Ana Preller
Santiago.....	Dr. Marcelo López-Lastra
Concepción.....	Dra. Marta Bunster
Valdivia.....	Dra. Gloria León
Talca.....	Dr. Simón Ruiz

AUSPICIADORES

ARQUIMED S.A.

BIOS CHILE I.G.S.A.

FERMELO S.A.

GENEXPRESS

SDT-USACH

UNIVERSIDAD DE TALCA

PROGRAMA

LUNES 9 DE ENERO DE 2006

12-14

INSCRIPCIONES, RECEPCION DE MATERIAL

15:00 17:00

INCORPORACIONES I

Presidente: Dr. Sergio Bazaes
Secretaria: Dra. Alejandra Moya

15:00 REGULACIÓN DE LA EXPRESION DE LOS GENES INVOLUCRADOS EN LA PRODUCCION DE MICROCINA E492 (Regulation of the expression of genes involved in the production of microcin E492) Corsini Gino¹, Lagos R.² ¹Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. ²Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

15:30 EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE COMPONENTES DEL LCR EN ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS (Differential expression of LCR component in neurological diseases). García Lorena. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

16:00 ASPECTOS ENZIMÁTICOS DEL METABOLISMO DE LA AGMATINA EN EL CEREBRO DE LA RATA: CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA AGMATINASA (Enzymatic aspects of agmatine metabolism in rat brain: Cloning and characterization of an agmatinase). Uribe Elena¹, García MA², Enríquez S¹, Martínez F², Nualart F², Carvajal N¹. ¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, ²Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

16:30 COMPLEJOS TRANSCRIPCIONALES QUE REGULAN GENES INVOLUCRADOS EN LA TOLERANCIA A DESECACIÓN (Transcriptional complexes regulating genes involved in desiccation tolerance). Casaretto José A¹, Schoonheim P², deBoer, AH². ¹Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile; ²Department of Structural Biology, Vrije Universiteit, The Netherlands.

17-17:30

CAFE

17:30-19:30

COMUNICACIONES LIBRES I

Presidente: Dr. Emilio Cardemil
Secretario: Dr. Alfredo Molina

17:30 ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DEL PROMOTOR DEL RETROTRANSPÓSÓN TLC1.1 FRENTE A SEÑALES QUÍMICAS Y A PATÓGENOS. (Structural and functional analyses of the TLC1.1 retrotransposon promoter in response to chemical signals and pathogens) Salazar M, Ruiz-Lara S. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

17:45 ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES INDUCIDA POR EXPOSICIÓN A COBRE EN ÁLAMO (*Populus deltoides*). Analysis of the differential gene expression caused by copper stress in poplar (*Populus deltoides*). Guerra Fernando¹, González E¹, Duplessis S², Kohler A², Martín F², Lebed P¹, Tapia J³. ¹Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile. ²Centre INRA de Nancy, Francia. ³Instituto de Química de Recursos Naturales, Universidad de Talca.

18:00 RECONOCIMIENTO DEL EXTREMO 5'SS DEL INTERMEDIARIO DE INTEGRACIÓN POR LA INTEGRASA DE MOLONEY MULV. (Recognition of the 5' ss end of the integration intermediate by Moloney MuLV integrase). Vera J, García A, Gajardo H, León Oscar. Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

18:15 EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES DE ESPERMIDINA SINTETASA Y SU RELACIÓN CON EL PROCESO DE ABSCISIÓN EN *Vitis vinifera*. (Differential expression of spermidine synthase genes and its relationship with the abscission process in *Vitis vinifera*). Alva Orlando, Cabrera N, Poblete F, González-Villanueva E. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

18:30 IDENTIFICACIÓN DE SECUENCIAS DE INSERCIÓN A GRAN ESCALA EN GENOMAS MICROBIANOS (Large Scale, Genomic Identification of Insertion Sequences in Microbial Genomes). Riadi Gonzalo¹, González D¹, Holmes D². ¹Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca; ²Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, Universidad Andrés Bello.

18:45 CARACTERIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PEQUEÑOS RNAs NUCLEOLARES C/D (snoRNAs C/D) EN *Arabidopsis thaliana*. (Characterization of the C/D snoRNAs expression in *Arabidopsis thaliana*.) Letelier Ingrid^{1,2}, Holuigue L², Jordana X², Echeverría M¹. ¹Laboratoire Génome et Développement des Plantes, UMR-5096 CNRS/UPVD/IRD, Université de Perpignan Via Domitia, Francia. ²Departamento Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile..

19:00 NUEVOS SITIOS PARA LA REGULACIÓN ALOSTÉRICA DEL TRANSPORTADOR FACILITATIVO GLUT1 (Novel sites for allosteric regulation of the facilitative hexose transporter GLUT1) Valenzuela Ximena, Raddatz N, Pérez A, Bulnes P, Reyes AM. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

19:15 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE MUTANTES DE *Trichoderma harzianum* Y EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES ANTAGÓNICAS CONTRA FITOPATÓGENOS DEL TOMATE (Biochemical characterization of mutants of *Trichoderma harzianum* and evaluation of their antagonistic properties against tomato phytopathogens). Ríos Juan Carlos¹, Polanco R¹, Valderrama L,² Montealegre J, Pérez LM.¹ ¹Dpto. de Cs. Biológicas. Fac. Cs. de la Salud. Univ. Andrés Bello. ²Dpto. de Sanidad Vegetal, Fac. Cs. Agronómicas. Universidad de Chile.

20:00-21:00

CONFERENCIA PABMB (INAUGURAL)

REGULACIÓN Y COMPARTIMENTALIZACIÓN DE LOS NIVELES INTRACELULARES DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO: SU ACCIÓN COMO MEDIADOR CELULAR

Dr. Ernesto Podestá

Departamento de Bioquímica Humana. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

PRESENTA: Dr. Claudio Vásquez

21:15 COCKTAIL INAUGURAL Y CENA

MARTES 10 DE ENERO

9:15-11:15

SIMPOSIO

BIOLOGIA ESTRUCTURAL EN LA ERA POS-GENOMICA
Coordinador: Dra. Victoria Guixé

9:15 Dr Richard Garrat, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, Brasil. **THE STRUCTURAL IMPERATIVE IN MOLECULAR BIOLOGY – CONSIDERATIONS ON THE PRESENT AND FUTURE.**

9:45 Dr Ricardo Cabrera, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. **EVOLUCIÓN DE PROPIEDADES CINÉTICAS, REGULATORIAS Y DE ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO EN LA SUPERFAMILIA DE LA RIBOQUINASA: EL CASO DE LA PFK-2 DE *E. coli*.**

10:15 Dr(c) José Jaime Arbildúa, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. **RELACIÓN ENTRE LA FLEXIBILIDAD ESTRUCTURAL DE FtsZ Y EL CAMBIO CONFORMACIONAL INDUCIDO POR GTP/GDP.**

10:45 Dr Danilo González-Nilo, DITYM, Universidad de Talca y Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca. **PAPEL DEL MEDIO DIELECTRICO EN LA FUNCIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA DE CANALES DE POTASIO.**

11:15-11:45

CAFE

11:45-12:45

CONFERENCIA Dr. SEVERO OCHOA

CANNABINOIDES: SEÑALIZACIÓN Y CONTROL DE LA SUPERVIVENCIA CELULAR

Dr. Manuel Guzmán,

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad Complutense de Madrid, España

PRESENTA: Dr. Xavier Jordana

12.45

ALMUERZO

14:30-15:30

VISITA PANELES (35 presentaciones)

Coordinadores: Dr. Jaime Eyzaguirre

Dra. Ana María Jabalquinto

Dr. Rodolfo Amthauer

Presidente: Dra. Margarita Concha
 Secretario: Dr. Nelson Carvajal

15:30 INDUCCIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GEN *ompW* DE *Salmonella enterica* serovar TYPHIMURIUM EN RESPUESTA A ESTRÉS POR METIL VIOLÓGENO. (Induction of the expression of the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium *ompW* gene in response to stress by methyl viologen). Gil Fernando¹, Foix P¹, Muñoz C¹, Bittner M², Ipinza F¹, Gutiérrez J¹, Mora G², Saavedra C¹. ¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad Andrés Bello, ²Laboratorio de Microbiología, Universidad Andrés Bello.

15:45 GENERACIÓN DE RESISTENCIA AL ATAQUE DEL PULGÓN VERDE DEL DURAZNERO (*Myzuz persicae persicae*) MEDIANTE PÉPTIDOS ANTIBIÓTICOS DE ACUMULACIÓN EN EL FLOEMA EN PLANTAS TRANSGÉNICAS DE *Arabidopsis thaliana*. (Resistant generation to green peach aphid (*Myzuz persicae persicae*) by means of antibiotic peptides accumulation in phloem of *Arabidopsis thaliana* transgenic plants). Le-Feuvre René¹, Ramírez C², Meza-Basso L². ¹Centro de Investigación en Biotecnología Silvoagrícola (CIBS), Universidad de Talca. ²Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología Universidad de Talca.

16:00 PARTICIPACIÓN DEL METABOLISMO DEL AMINOÁCIDO CISTEÍNA EN LA TOLERANCIA BACTERIANA A K₂TeO₃: UN MODELO PARA LA RECUPERACIÓN DE FUNCIONES CELULARES DAÑADAS POR ESTE TÓXICO. (Participation of cysteine metabolism in the bacterial tolerance to K₂TeO₃: a model for recovery of tellurite-damaged cell functions). Fuentes Derie¹, Fuentes E¹, Sandoval M¹, Pérez JM¹, Araya MA², Saavedra CP, Vásquez C¹. ¹Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, ²Roche Chile, ³Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello.

16:15 RIBOZIMAS DE HORQUILLA Y MARTILLO INACTIVAN EL mRNA DE LA DESHIDROGENASA ALDEHÍDICA MITOCONDRIAL (ALDH2) DE RATA: HACIA UNA TERAPIA GÉNICA PARA EL ALCOHOLISMO (Hairpin and hammerhead ribozymes silence the mRNA for rat mitochondrial aldehyde dehydrogenase (Aldh2) towards gene therapy for alcoholism) Lobos Lorena^{1,2}, Muñoz C², Israel Y², Sapag A². ¹Programa de Magíster en Bioquímica, ²Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

16:30 AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL GEN CODIFICANTE DEL TRANSPORTADOR DE YODO DE LA TIROIDES DEL ROEDOR *Aulyscomis boliviensis* DEL ALTIPLANO ANDINO. (Isolation and characterization of the coding gene for the iodide symporter of the *Aulyscomis boliviensis* Thyroid from the Andes highland) Arriagada Alejandro¹, Navarro C, Valdés C, Valenzuela M², Cabello G², Molina A², Gompert B³, Riedel C¹. ¹Universidad Andrés Bello, ²Universidad de Tarapacá, ³University Collage London.

16:45 EL HONGO *Penicillium purpurogenum* SECRETA TRES ISOENZIMAS DE ARABINOFURANOSIDASA. (The fungus *Penicillium purpurogenum* secretes three arabinofuranosidase isoenzymes). Ravanal Cristina¹, Fritz M¹, de Ioannes P², Carvallo M², Braet C^{2,3}, Navarrete M¹, Prades M¹, Eyzaguirre J^{1,2}. ¹Laboratorio de Bioquímica, Departamento Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago. ²Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago. ³Department of Biochemistry, National University of Ireland, Galway, Irlanda.

17:00 ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL DURANTE LA ACLIMATACIÓN A ESTRÉS SALINO EN *Lycopersicon chilense*. (Analysis of differential gen expression during salt stress acclimatation in *Lycopersicon chilense*). Tapia Gerardo, Yañez M, Ruiz-Lara S. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

17:15 ESTRUCTURA DEL FICOBILISOMA DE *Gracilaria chilensis*. (Structure of the Phycobilisome of *Gracilaria chilensis*) Burgos F, Bruna C, Pouchucq L, Wandersleben T, Martínez Oyanedel J, Bunster Marta. Grupo de Biología Estructural, Lab. Biofísica Molecular, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

17:30-18

CAFE

18-20:30

TALLER

VISION DE LA BIOQUIMICA EN CHILE
Coordinador: Dr. Jorge Babul

1. La Bioquímica del siglo 21. Jorge Babul
2. Formación de Bioquímicos. Alejandro Reyes
3. Enseñanza de la Bioquímica. Ana Preller
4. Portal www.bioquimica.cl. Matías Gutiérrez
5. Programas de doctorado. Cecilia Rojas
6. Grupos y temas de investigación. Jaime Eyzaguirre
7. Publicaciones. Victoria Guixé
8. Metodologías y equipamiento. Ricardo Cabrera
9. El sector productivo. Rafael Vicuña
10. Discusión

20:30-21:15

ENTREGA PREMIO MEDALLA Dr HERMAN NIEMEYER

PRESENTA: Dra. Ana Preller

21:15

CENA

MIERCOLES 11 DE ENERO de 2006

9:15-11:15

COMUNICACIONES LIBRES III

Presidente: Dra. Elizabeth Huber
Secretario: Dr. Alejandro Reyes

9:15 CONDUCTANCIAS CATIONICAS IDENTIFICADAS POR PATCH-CLAMP EN *Trypanosoma cruzi*. POSIBLE ROL DURANTE EL PROCESO APOPTÓTICO (Cationic conductances identified by patch-clamp in *Trypanosoma cruzi*: possible role during apoptosis). Jiménez Verónica, Galanti N, Riquelme G. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

9:30 INFLUENCIA DEL ESTADO REDOX EN LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS POR HORMONA TIROÍDEA (T₃) EN HÍGADO DE RATA. (Influence of the redox state in protein expression by thyroid hormone (T₃) in rat liver) Varela Patricia, Fernández V, Videla LA. Programas de Farmacología Molecular & Clínica y Biología Celular & Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

9:45 PERFIL DE ENERGIA LIBRE Y DE POTENCIAL ELECTROSTATICO EN EL VESTÍBULO INTRACELULAR DE LOS CANALES DE K⁺ DEPENDIENTES DE VOLTAJE. (Free energy and electrostatic potential profile in the inner vestibule of voltage gated potassium channels). González Wendy§, Berneche S‡, Latorre R*, González-Nilo FD§. §Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, ‡ Structural Biology Division, Biozentrum, University of Basel, Switzerland, *Centro de Estudios Científicos (CECS), Valdivia.

10:00 REGULACION POR HEMO DE UNA GLUTAMIL-tRNA SINTETASA EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (A GluRS that is regulated by heme). De Armas Merly, Levicán G, Katz A, Orellana O. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

10:15 ESTUDIOS DEL ESTADO DE OLIGOMERIZACION DE FICOBILIPROTEINAS POR HERRAMIENTAS BIO-INFORMATICAS (Studies of the oligomerisation state of Phycobiliprotein by bioinformatics tools). Martínez-Oyanedel José, Sepúlveda J, Cabrera JR, Burgos F, Figueroa M, Bunster M. Laboratorio Biofísica Molecular. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción

10:30 ANALISIS DE LA EXPRESION DE GENES PARA PROTEINAS DE FOTOSISTEMAS EN PLANTAS DE *Lycopersicon chilense* EXPUESTAS A BAJAS TEMPERATURAS. (Expression analysis of genes encoding photosystems proteins in cold-stressed *Lycopersicon chilense* plants). Chilian Javier, Poblete F, González E. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

10:45 SUPLEMENTACION PERINATAL CON DIFERENTES FORMAS DE ACIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA) EN LA INCORPORACION DEL ACIDO GRASO EN SEGMENTOS CEREBRALES DE LAS CRIAS: UN MODELO EXPERIMENTAL EN RATAS. (Perinatal docosahexaenoic acid (DHA) supplementation in the fatty acid accretion in brain segments of the pups: the rat as experimental model). Valenzuela Alfonso, Golusda C, Sanhueza J, Muñoz P, Nieto S. Laboratorio de Lípidos y Antioxidantes y Laboratorio de Cromatografía, INTA, Universidad de Chile.

11:00 MODELAMIENTO MOLECULAR DE LA CYSK DE *Geobacillus stearothermophilus* V: PREDICCIÓN DE UN POSIBLE MECANISMO CATALITICO. (Molecular simulation of the CysK from *Geobacillus stearothermophilus* V: prediction of a putative catalytic mechanism). Arenas Mauricio², González D², Muñoz C¹, Pérez JM³, Encinas MV³, Vásquez C³, Saavedra C¹. ¹Laboratorio Microbiología Molecular, UNAB; ²Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, UTALCA; ³Laboratorio Microbiología Molecular, USACH.

11:15-11:45

CAFE

11:45-12:45

TALLER

EDUCACION DE LA BIOQUIMICA

Coordinador: Dr. Raúl Herrera

11:45 Garrido¹ L, Solis¹ V, H. Mendoza² H, Riveros¹ S, Dr Fernando D González-Nilo². ¹DITYM, Universidad de Talca y ²Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca. **IMPLEMENTACION DE SISTEMA INALAMBRICO PARA ANALISIS BIOINFORMATICO EN LABORATORIOS DE BIOQUIMICA. MOVI-LAB.**

12:05 Dr Angel Herráez. Dep. Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares, España. **JMOL: NUEVA PLATAFORMA PARA MOSTRAR LA ESTRUCTURA DE BIOMOLÉCULAS EN ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN.**

12:25 Dr Moya-León MA y Herrera R. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca. **INNOVANDO EN LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS BASICAS- APRENDIZAJE DE LA BIOQUIMICA**

12:45-13:15

CHARLA ARQUIMED

CAPTURA, PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE IMÁGENES DIGITALES EN MICROCOPIA DE FLUORESCENCIA

13:15

ALMUERZO

14:30-15:30

VISITA PANELES (35 presentaciones)

Coordinadores: Dr. Jaime Eyzaguirre

Dra. Ana Maria Jabalquinto

Dr. Rodolfo Amthauer

15:30-17:30

COMUNICACIONES LIBRES IV

Presidente: Dr. Enrique González

Secretaria: Dra. Claudia Saavedra

15:30 AISLAMIENTO Y EXPRESION DE GENES DE *Streptococcus phocae* PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA RECOMBINANTE CONTRA EL SINDROME DE COCACEAS GRAM POSITIVAS EN SALMON (Isolation and expression of genes of *Streptococcus phocae* for the development of a recombinant vaccine against the gram-positive cocci syndrome in salmon) Manosalva Haeddy*, Wilhelm V*, Roseblatt M*, Miquel A**, Valenzuela,PD*. Fundación Ciencia para la Vida*, Instituto MIFAB* y BiosChile I.G.S.A**.

15:45 ESPECIFICIDAD DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOL-PIRÚVICA (PEPC) DE *Saccharomyces cerevisiae*: CALCULOS DE PERTURBACIÓN DE ENERGÍA LIBRE. (Specificity of *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase: free energy perturbation calculations). González-Nilo Fernando D§, Venable RM¶, Cardemil E‡.§ Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, ¶Biophysics Laboratory, Center for Biologics Evaluation and Research, Rockville, USA., ‡ Departamento de Ciencias Químicas, Universidad de Santiago de Chile.

16:00 PERÓXIDO DE HIDRÓGENO INDUCE SEÑALES DE CALCIO, ACTIVACIÓN DE CREB Y ERK Y MODIFICACIÓN REDOX DEL RECEPTOR DE RYANODINA EN NEURONAS DE HIPOCAMPO Y N2A (Hydrogen peroxide induces calcium signals, CREB and ERK activation and redox modification of ryanodine receptors in hippocampal and N2a neurons)*#Kemmerling Ulrike, \$Muñoz P, *Müller M, *Sánchez G,*Carrasco MA, *Hidalgo C. *CEMC, ICBM, Fac. Medicina, \$ Facultad de Ciencias, U. de Chile; #Fac. Cs de la Salud, Universidad de Talca.

16:15 PRODUCCION DE COMPUESTOS VOLATILES EN PERAS cv PACKHAM'S TRIUMPH Y SU RELACION CON LA MADUREZ Y ACTIVIDAD DE AAT (Production of volatile compounds by Packham's Triumph pears and its relation with the ripening stage and ATT activity). Moya-León M^º Alejandra, Vergara M, Nuñez A, Bravo C, Moggia C. (1) Laboratorio de Fisiología Vegetal, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, (2) Centro de Pomáceas, Universidad de Talca.

16:30 INDUCCIÓN DE APOPTOSIS POR DROGAS NATURALES Y SINTÉTICAS EN EPIMASTIGOTES Y TRYPOMASTIGOTES DE *Trypanosoma cruzi* (Induction of apoptosis in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes and trypomastigotes by natural and synthetic drugs) Jiménez V^{1,2}, Paredes R², Sosa MA¹, Galanti Norbel². ¹IHEM, Univ Cuyo, Argentina- ²ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

16:45 GLUCOSA MODULA EN FORMA DIFERENCIAL LA LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE ALDOLASA A EN CÉLULAS DE MÚSCULO LISO Y ESQUELETICO. (Glucose modulates the subcellular localization of Aldolase A in both, smooth and skeletal muscle cells). Spichiger Carlos, Slebe JC, Yáñez AJ. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

17:00 INACTIVACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA MIOSTATINA EN EL PEZ CEBRA MEDIADA POR EL PÉPTIDO ASOCIADO A LA LATENCIA (LAP). (Myostatin bioactivity inactivation by means of the latency associated peptide (LAP) in zebrafish). Delgado Iselys, Navarro C, Fuentes E, Escobar S, Moltó N, Álvarez M, Vera MI, Molina A. Laboratorio de Genética Molecular y Biotecnología, Dpto. Cs. Biol. Universidad Andrés Bello; MIFAB.

17:15 ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO EN LA ARGINASA TIPO I: MUTACIONES DE LIGANDOS PARA EL GRUPO CARBOXILO DE LA ARGININA (Substrate specificity of human arginase I: mutations of ligands to the arginine carboxyl group) Orellana M^a Soledad, Alarcón R, Neira B, Carvajal N, Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción.

17:30-18:00

CAFÉ

8:00-20:00

SIMPOSIO

SIMPOSIO BASES MOLECULARES Y FISIOLÓGICAS DE LA RESPUESTA A ESTRÉS
COORDINADOR: Dr. Simón Ruiz

18:00 Dra. Blanca San Segundo. Departamento de Genética Molecular. Instituto de Biología Molecular de Barcelona. CSIC. Jordi Girona 18, 08034 Barcelona. España. **MECANISMOS DE DEFENSA DE LAS PLANTAS FRENTE A PATÓGENOS.**

18:30 Dr. Hugo Peña-Cortés¹ Alvaro Cuadros¹, Ingrid Ramírez¹, Manuel Pinto², Thomas Fichet², Alejandro Riquelme², Patricio Hinrichsen³, Humberto Prieto³, Marlene Rosales³, Enrique González⁴ and Simón Ruíz⁴. ¹Centro de Biotecnología, UTFSM, Valparaíso, Chile. ²Universidad de Chile, Santiago, Chile. ³Instituto de Investigaciones Agropecuarias, La Platina, Santiago, Chile. ⁴Universidad de Talca, Talca, Chile. **PROYECTO DE DESARROLLO DE LA GENÓMICA FUNCIONAL EN CHILE: ETAPA I VID (DEGECHIVID): USO DE ESTS Y MACROARREGLOS PARA EL DESCUBRIMIENTO DE GENES Y RUTAS METABÓLICAS RELACIONADAS CON EL DESARROLLO DEL FRUTO Y MECANISMOS DE DEFENSA CONTRA *Botrytis cinerea*.**

19:00 Dr. Eduardo Blumwald. Dept of Plant Sciences, University of California, Davis, CA, USA. **REGULACIÓN DE LA SELECTIVIDAD DEL ANTI-TRANSPORTADOR VACUOLAR DE NA⁺/H⁺, ATNHX1, DE *Arabidopsis thaliana*.**

19:30 Dra. Montserrat Pagés. Departamento de Genética Molecular, Instituto de Biología Molecular de Barcelona (IBMB) Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).18-26 Jordi Girona, 08034, Barcelona, SPAIN. **REGULACIÓN DE GENES INDUCIDOS EN RESPUESTA AL ABA Y AL ESTRÉS HIDRICO EN EL MAÍZ.**

20:15-21:15

CONFERENCIA Dr. OSVALDO CORI

TRAVESIA DE UNA INVESTIGACION BIOQUIMICA: DE LAS PLANTAS AL HOMBRE
Dra. M. Antonieta Valenzuela

Laboratorio de Bioquímica Dr. Osvaldo Cori, Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceuticas, Universidad de Chile.

PRESENTA: Dr. Rafael Vicuña

21:15

CENA/FIESTA

JUEVES 12 DE ENERO 2006

9:30-11:30

INCORPORACIONES II

9:30 GIBERELINAS Y TUBERIZACIÓN. (Gibberellin and tuberization) Rodríguez-Falcón Mariana(*), Prat S.(**). (*)Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, (**)Consejo Superior de Investigaciones Científicas CSIC, Madrid, España.

10:00 CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS QUE RECONOCEN SECUENCIAS PROMOTORAS DE GENES LIGNINOLÍTICOS DE *Ceriporiopsis subvermispota* (Characterization of proteins that recognize promoter sequences of ligninolytic genes from *Ceriporiopsis subvermispota*). Polanco R.¹ Lobos S², Vicuña R³. ¹Dpto. de Cs. Biológicas. Fac. Cs. de la Salud. Univ. Andrés Bello. ²Dpto. de Bioquímica y Biol. Molec. Fac. de Cs. Químicas y Farm. Univ. de Chile. ³Dpto. de Genética Molec. y Microbiología, Fac. Cs. Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

10:30 CARACTERIZACION MOLECULAR Y CINETICA DE LA AGMATINASA DE *Escherichia coli*: MUTAGENESIS SITIO DIRIGIDA Y MODELAJE MOLECULAR (Molecular and Kinetic characterization of agmatinase from *E.coli*: site directed mutagenesis and molecular modelling studies) Salas Mónica, Carvajal N. Dpto. Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas Universidad de Concepción. Instituto de Bioquímica, Fac. Cs. Universidad Austral.

11:00 UNA REVOLUCIÓN CIENTÍFICA EN CHILE: LA TEORÍA DEL ESTADO VIVO DE GILBERT N. LING. ESTUDIOS MECANOCUÁNTICOS. (A scientific revolution in Chile: The living state theory of Gilbert N. Ling. Quantum-mechanical studies.) Saragoni Victor. Unidad de Genética Forense. Servicio Médico Legal, Santiago.

11:30-12:00

CAFÉ

12:00-13:00

CONFERENCIA DE CLAUSURA

TUNGSTATE, A POTENTIAL ANTIDIABETIC AGENT

Dr. Joan J Guinovart

IRB-Parc Científic de Barcelona. Universitat de Barcelona. España

PRESENTA: Dr. Juan Carlos Slebe

13:00

ALMUERZO DE DESPEDIDA

CONFERENCIAS

CONFERENCIA PABMB (INAUGURAL)

REGULACIÓN Y COMPARTIMENTALIZACIÓN DE LOS NIVELES INTRACELULARES DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO: SU ACCIÓN COMO MEDIADOR CELULAR. Ernesto J Podesta. Departamento de Bioquímica Humana. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

El ácido araquidónico es uno de los segundos mensajeros que trabajan en los sistemas de transducción de mensajes estimulados por hormona. *Per se* o a través de su metabolización a productos lipo-oxigenados o ciclo-oxigenados ejercen diferentes funciones en el control del crecimiento y la diferenciación celular. Es ampliamente aceptado que una de las principales fuentes de liberación de ácido araquidónico es por acción de las fosfolipasas. Sin embargo, recientemente nuestro grupo de trabajo ha descrito una nueva vía de liberación de araquidónico en la cual intervienen en forma concertada una acil-CoA sintetasa y una acil-CoA tioesterasa con preferencia para ácidos grasos de cadena muy larga. La acil-CoA sintetasa denominada ACS4 es una enzima que preferentemente utiliza al ácido araquidónico secuestrándolo del pool libre intracelular para esterificarlo en forma de araquidonoil-CoA. Este producto es luego transportado a compartimentos específicos de la célula (mitocondria núcleos) para ser sustrato de una acil-CoA tioesterasa, la cual libera ácido araquidónico en sitios específicos de la célula. Este araquidónico liberado tiene función *per se* en el transporte de lípidos a través de membranas o en la activación de genes tempranos que dan lugar a la inducción de proteínas regulatorias. La compartimentalización de ácidos grasos en organelas sería un mecanismo de regulación de la respuesta hormonal tanto en células normales como en células neoplásicas.

CONFERENCIA Dr. SEVERO OCHOA

CANNABINOIDES: SEÑALIZACIÓN Y CONTROL DE LA SUPERVIVENCIA CELULAR. Manuel Guzmán. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Universidad Complutense de Madrid

La marihuana (*Cannabis sativa* L.) y sus derivados se han empleado médica y lúdicamente desde hace al menos cincuenta siglos. Sin embargo, la estructura química de sus componentes activos (los "cannabinoides") no se dilucidó hasta principios de los años 1960. Hubo que esperar tres décadas más para que se caracterizaran en nuestro organismo receptores específicos de cannabinoides y moléculas endógenas que se unen a ellos (los por ello denominados "endocannabinoides"). Este "sistema endocannabinoide" constituye un nuevo sistema neuromodulador que, mediante la inhibición de la secreción de neurotransmisores, participa en el control de procesos como el movimiento, la memoria y el apetito. Durante los últimos años, nuestro grupo ha estudiado el mecanismo de acción de los cannabinoides en el cerebro, con especial énfasis en los procesos de transducción de señales y el control de la supervivencia celular. Así, hemos observado que los receptores de cannabinoides se acoplan a diversas vías de señalización como las cascadas de proteína quinasas activadas por mitógenos, la ruta de fosfatidilinositol 3-quinasa/Akt y la síntesis de esfingolípidos bioactivos. A través de ellas, estos receptores median procesos como la proliferación y diferenciación de células progenitoras neurales, la supervivencia de neuronas y células de glía y la apoptosis de células tumorales. Estos datos apoyan la idea de que el sistema endocannabinoide está implicado en el control de las decisiones vitales básicas de las células neurales,

constituyendo quizás un nuevo sistema endógeno de protección del cerebro.

CONFERENCIA Dr. OSVALDO CORI

TRAVESIA DE UNA INVESTIGACION BIOQUIMICA: DE LAS PLANTAS AL HOMBRE. M. Antonieta Valenzuela. Depto Bioquímica y Biología Molecular, Fac Cs Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Los inicios de investigación bioquímica en el Laboratorio Dr Osvaldo Cori fueron en plantas por su interés en estudiar la vía de Biosíntesis de terpenos en *Pinus radiata*. Producto de esto surgió la necesidad de preparar una enzima pirofosfotidrolítica (apirasa) como herramienta para identificar la presencia de derivados pirofosforilados, originando la línea dirigida por la Dra Aída Traverso. Los estudios realizados en plantas, tubérculo de *Solanum tuberosum* lograron la purificación de la enzima, identificación de aminoácidos del sitio activo, caracterización de isoformas, etc. Frente a la incredulidad del Dr Cori en 1980 se describió su presencia en saliva de mosquitos y páncreas de cerdo. Ingresamos a un campo de mucha competitividad internacional para buscar su función, dirigiendo el estudio a tejidos inicialmente de rata y luego humano. La función de consenso es la de regular los niveles extracelulares de nucleótidos, relacionado con muchos procesos fisiológicos. Las vicisitudes del financiamiento nos obligó a hacer un giro en nuestra investigación y dedicarnos a trabajar en el área de biomedicina sobre la enfermedad neurológica Paraparesia Espástica Tropical producida por el virus HTLV-I, viraje definitivo desde las plantas al hombre. Esto ha cambiado las proteínas de estudio, son otras enzimas hidrolíticas y proteínas de matriz extracelular, factores tróficos, estrés oxidativo, todo relacionado con el apasionante desafío de comprender la acción dañina de la infección viral. Iniciamos un camino relacionado con modificaciones de proteínas involucradas en el transporte axonal, considerando que la enfermedad produce en los individuos un daño selectivo en los axones largos del haz corticoespinal.

CONFERENCIA DE CLAUSURA

TUNGSTATE, A POTENTIAL ANTIDIABETIC AGENT. Joan J. Guinovart IRB-Parc Científic de Barcelona. Universitat de Barcelona. España

The anti-diabetic properties of sodium tungstate have been discovered by our group. In several animal models of type 1 and 2 diabetes, this compound reduces and, in most cases, normalizes glycemia when administered orally both in short- and long-term treatments. Tungstate treatment prevents diabetes-induced morphological changes in the kidney and ocular lens, and reduces mortality. Furthermore, no hypoglycemic episodes or undesirable side effects are observed in treated diabetic or healthy animals. In addition, there is no evidence of toxicity or intolerance after prolonged administration of this compound.

Tungstate treatment increases the total amount and translocation of glucose transporter GLUT4 in muscle, and restores hepatic glucose metabolism in a type 1 diabetes model, streptozotocin-induced diabetic rats. In Zucker diabetic fatty rats, a type 2 diabetes model, this compound also markedly reduces hypertriglyceridemia. Moreover, in certain animal models of diabetes the oral administration of tungstate stimulates the regeneration of β -cells from pancreatic islets,

possibly from ductal cells, which produce an increase in insulinemia.

Our group is currently studying the molecular mechanisms of tungstate action. Tungstate exerts insulin-like actions in several cellular systems. This compound stimulates glycogen deposition in primary cultured hepatocytes in an insulin-receptor independent fashion. In contrast, it induces a clear transient phosphorylation and consequent activation of ERK1/2. These protein kinases trigger the phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 β (GSK3 β) and p90rsk1, and ultimately the activation of glycogen synthase. At present, tungstate is in phase I of clinical trials at the *Hospital del Mar de Barcelona*. Phase II is expected to start next spring.

SIMPOSIOS

BIOLOGIA ESTRUCTURAL EN LA ERA POS-GENOMICA

THE STRUCTURAL IMPERATIVE IN MOLECULAR BIOLOGY – CONSIDERATIONS ON THE PRESENT AND FUTURE. Richard Garratt. Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, Brasil

Recent years have seen dramatic advances in structural biology in both experimental and theoretical terms. On the experimental side, automation in protein expression, crystallization, crystal mounting, data collection, data processing and structure refinement have contributed to the current boom in structure determination. These have been aided by advances in hardware and software as well as high flux synchrotron radiation sources. On the theoretical side, steady progress in structure prediction has been monitored via several editions of CASP, particularly with respect to ab initio predictions, which have shown the most significant improvements in recent years.

These advances mean that the focus for much research has changed. Current challenges include the completion (or almost completion) of the universe of protein folds via structural proteomics, the design of new foldable proteins ab initio, the use of protein structures for structure based drug and vaccine design, amongst others. Furthermore, it is clear that one representative structure for each family is insufficient. We are also likely to see the re-determination of the same (or similar) structures many times over in the coming years, in order to provide enough information for complete biological insight.

In this talk, several examples from our own work and that of others will be used to illustrate these points.

EVOLUCIÓN DE PROPIEDADES CINÉTICAS, REGULATORIAS Y DE ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO EN LA SUPERFAMILIA DE LA RIBOQUINASA: EL CASO DE LA PFK-2 DE *E. coli* (Evolution of kinetic, regulatory and substrate specificity properties in the ribokinase superfamily: the case of Pfk-2 from *E. coli*). Ricardo Cabrera, V. Guixé. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los miembros de la superfamilia riboquinasa constituyen un grupo heterogéneo de kinasas que fosforilan intermediarios de diferentes vías metabólicas (glicólisis, pentosas-fosfato y síntesis de coenzimas). Se construyó un árbol filogenético para la superfamilia, basado en la superposición estructural de los 22 miembros con estructura conocida, con el propósito de entender la evolución de la función en este grupo de enzimas. A partir de este árbol es posible predecir la naturaleza estructural de los sustratos usados por miembros cuya función es desconocida. En la superfamilia, la fosfofructoquinasa-2 (Pfk-2) de *E. coli* es uno de los miembros que han sido más extensamente caracterizados en sus propiedades cinéticas y regulatorias, a pesar de que su estructura tridimensional no ha sido determinada experimentalmente. En Pfk-2, el reemplazo de residuos presentes en motivos conservados mediante mutagénesis sitio-dirigida, y el uso del modelamiento por homología han permitido elaborar un cuadro general acerca del mecanismo de fosforilación a nivel de la superfamilia, incluyendo determinantes de especificidad por sustrato y de unión de Mg^{2+} en el sitio activo. En su conjunto, estos resultados hacen posible la comparación de rasgos estructurales entre Pfk-2 y la fosfofructoquinasa-1 (Pfk-1, también de *E. coli*), la cual pertenece a una familia no relacionada filogenéticamente con la superfamilia riboquinasa. Ambas enzimas, Pfk-1 y Pfk-2 representan un caso paradigmático de convergencia funcional en enzimas del metabolismo central de azúcares. FONDECYT 1040892

RELACIÓN ENTRE LA FLEXIBILIDAD ESTRUCTURAL DE FtsZ Y EL CAMBIO CONFORMACIONAL INDUCIDO POR GTP/GDP. (Relationship between FtsZ structural flexibility and the conformational change induced by GTP/GDP) José Arbildua, A. Garcés, F. Montecinos, A. Katz, R. Diaz, R. Lagos, O. Monasterio. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La FtsZ (Filamentous temperature sensitive Z), proteína que participa en la división bacteriana presenta 2 dominios, uno amino, con un plegamiento "Rossmann" (une e hidroliza GTP) y uno carboxilo, con un plegamiento "alfa/beta plait". GTP induce su polimerización y GDP la desfavorece. La comparación de estructuras 3D con y sin ligandos, de diferentes familias, mostró que residuos flexibles en el sitio de unión modulan los cambios conformacionales conservados en la superficie de la proteína y se extienden a regiones alejadas del sitio de unión. Como modelo experimental para evaluar este tipo de comportamiento se eligió la familia de la FtsZ. Los resultados de un análisis bioinformático para tres estructuras cristalinas de la familia de la FtsZ y un modelo de *E.coli*, sugieren que la interfase entre ambos dominios sería importante para la estabilidad de la proteína. También se hizo un análisis de las regiones de la estructura de FtsZ relacionadas con su funcionalidad, comparando cristales en estado GTP y GDP, el factor térmico (ΔT) y los movimientos correlacionados a partir de dinámica molecular. Los resultados mostraron una zona flexible de la superficie de la proteína que comprendía parte del sitio de unión del nucleótido y desde allí se extendía hasta el dominio C-terminal. Estas regiones se evaluaron con mutaciones puntuales que afectaron la función de FtsZ al favorecer el estado GDP o GTP, mientras la estructura secundaria y la estabilidad se mantuvieron inalteradas. Se concluye que el estado de fosforilación del nucleótido induce dos conformaciones principales, cuyo equilibrio se asocia al movimiento de zonas flexibles, que depende de la hidrólisis de GTP.

Financiado por proyecto FONDECYT 1050677.

PAPEL DEL MEDIO DIELECTRICO EN LA FUNCIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA DE CANALES DE POTASIO (Role of the dielectric environment in the function of Potassium channel family members). Gonzalez-Nilo Fernando D. Universidad de Talca, Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Campus Lircay, Talca.

La función de los canales de K es crucial para la transmisión de impulsos eléctricos en el sistema nervioso. Gracias a las revolucionarias técnicas de cristalografía de rayos X con detergentes, implementadas por Frederick Mackinnon (Nobel 2003), disponemos de modelos estructurales de estas proteínas en el ambiente de la membrana. En este sentido, la simulación molecular ha cobrado un rol importante en el análisis de las propiedades energéticas, estructurales y dinámicas de estas proteínas. Nuestros estudios, basados en la resolución numérica de las ecuaciones de Poisson-Boltzmann, muestran que un alto potencial electrostático en la región del filtro de selectividad aumenta considerablemente la conductancia del canal. Interesantemente, encontramos que residuos lejanos al filtro de selectividad pueden influir fuertemente en el potencial electrostático de regiones tan alejadas como 20 Å de distancia en tres canales de la familia, SHAKER, Kv1.2 y hSho, cuyo ordenamiento de cadenas laterales genera campos de reacción diferentes, que afectan la estabilización de los iones en el filtro de selectividad. Este efecto a larga distancia ocurre debido a la baja constante dieléctrica de la región transmembranal, en contraposición a lo observado en proteínas globulares donde el solvente apantalla fuertemente el potencial electrostático. Otros aspectos de nuestro estudio señalan la importancia de la constante dieléctrica del medio en la regulación del estado de

protonación de aminoácidos como Asp, Glu y Arg, los cuales, a su vez, afectan la conductancia del canal TASK2, regulado por pH. En este ámbito hemos hecho un notable descubrimiento en el mecanismo de activación de este tipo de canales.

FGN agradece la importante colaboración de los Drs. Ramon Latorre, María Isabel Niemeyer y Francisco Sepulveda, CECS-Vadivia. FONDECYT: 1040254

BASES MOLECULARES Y FISIOLÓGICAS DE LA RESPUESTA A ESTRÉS

MECANISMOS DE DEFENSA DE LAS PLANTAS FRENTE A PATÓGENOS. Blanca San Segundo. Departamento de Genética Molecular. Instituto de Biología Molecular de Barcelona. CSIC. Jordi Girona 18, 08034 Barcelona. España.

Las plantas, como otros seres vivos, se encuentran sometidas a condiciones ambientales desfavorables, ante las cuales deben adaptarse para sobrevivir. Son muchos los organismos potencialmente perjudiciales para la planta, desde agentes infecciosos (virus, viroides, bacterias, hongos), hasta organismos consumidores de vegetales (insectos, nematodos). Para contrarrestar el ataque por parte de estos organismos, las plantas desarrollan una amplia gama de respuestas de defensa.

En muchos casos, las plantas no son susceptibles del ataque por un patógeno gracias a un tipo de resistencia basal o resistencia general ("non-host resistance"). Este es un proceso complejo, no específico de patógeno y duradero, en el cual participan una gran variedad de defensas, tanto constitutivas como inducibles. Este tipo de resistencia, se desencadena tras el reconocimiento de patrones moleculares asociados al patógeno (pathogen-associated molecular patterns, o PAMPs) y está asociado a la expresión de genes de defensa. En otros casos, la resistencia viene condicionada genéticamente y está gobernada por el reconocimiento entre el producto de un gen de resistencia (gen R) de la planta con el producto de un gen de avirulencia (gen avr) del patógeno (teoría gen-a-gen). Este reconocimiento determina la rápida puesta en marcha de las respuestas de defensa de la planta. A diferencia de la resistencia basal, la resistencia mediada por genes R es altamente específica (cultivar de la planta huésped-raza del patógeno). Así, una mutación única en el gen avr del patógeno es suficiente para que no se produzca el reconocimiento por parte de la planta y en consecuencia se origina la enfermedad.

Los mecanismos moleculares que conducen hasta la activación de las respuestas de defensa de las plantas se encuentran bajo intensa investigación. Tras el reconocimiento del patógeno (o de moléculas derivadas del patógeno) se activan una serie de mecanismos en los que intervienen múltiples vías de señalización que conducen hasta la activación de las respuestas de defensa. La primera línea de defensa se observa en las células que se encuentran en contacto directo, o en la proximidad del patógeno. Aquí, se observan cambios importantes en el flujo de iones de la membrana plasmática, generación de especies reactivas de oxígeno y cambios en el estado de fosforilación de proteínas. Se ha descrito la implicación de proteínas quinasa MAP kinasas (Mitogen-activated protein kinases, MAPKs) y de proteínas quinasa dependientes de calcio (calcium-dependent protein kinases, CDPKs) en la respuesta frente a patógenos. Estas respuestas locales pueden llevar a una muerte celular rápida, conocida como respuesta hipersensible ("hypersensitive response", HR), y a la detención de la

expansión del patógeno. Una segunda línea de defensa, implica cambios metabólicos importantes que están dirigidos hacia el reforzamiento de la pared celular, la activación del metabolismo secundario con la síntesis de fitoalexinas (compuestos antimicrobianos), la síntesis de proteínas y/o péptidos con actividad antimicrobiana, o de moléculas señalizadoras para la activación de las respuestas de defensa a nivel sistémico. Un respuesta generalizada en las plantas es la síntesis y acumulación de proteínas relacionadas con patogénesis (proteínas PR, "Pathogenesis-Related proteins"). Las proteínas PR se sintetizan no solo en los puntos de infección sino también en sitios distantes y confieren protección a la planta frente a infecciones posteriores no solo por el patógeno que inicialmente indujo su expresión sino también frente a otros patógenos. Este fenómeno se conoce como resistencia sistémica adquirida (SAR, "systemic Acquired Resistance"), y viene a representar la tercera línea de defensa de las plantas. Existe además una forma diferente de resistencia inducida promovida por rizobacterias no patogénicas del suelo, conocida como resistencia sistémica inducida (ISR, Induced Systemic Resistance).

En la actualidad, se está dedicando una atención especial al estudio de los mecanismos de señalización que están implicados en la resistencia frente a patógenos, tanto a nivel local como a nivel sistémico. La identificación de genes reguladores de la respuesta de defensa indica que las plantas utilizan diferentes vías frente a diferentes patógenos. Por lo general, estas vías están caracterizadas por moléculas señalizadoras específicas que son cruciales para la regulación de la expresión de genes de defensa. La molécula más estudiada es el ácido salicílico. Otras vías utilizan el ácido jasmónico, ácido abscísico o etileno para su activación. El óxido nítrico, las especies reactivas de oxígeno, la sistemina, sacarosa, y más recientemente los lípidos se encuentran asimismo implicados en la activación de las respuestas de defensa, locales y/o sistémicas.

PROYECTO DE DESARROLLO DE LA GENÓMICA FUNCIONAL EN CHILE: ETAPA I VID (DEGECHIVID): USO DE ESTS Y MACROARREGLOS PARA EL DESCUBRIMIENTO DE GENES Y RUTAS METABÓLICAS RELACIONADAS CON EL DESARROLLO DEL FRUTO Y MECANISMOS DE DEFENSA CONTRA *Botrytis cinerea*. Hugo Peña-Cortés¹, Alvaro Cuadros¹, Ingrid Ramírez¹, Manuel Pinto², Thomas Fichel², Alejandro Riquelme², Patricio Hinrichsen³, Humberto Prieto³, Martene Rosales³, Enrique González⁴ and Simón Ruiz⁴. ¹Centro de Biotecnología, UTFSM, Valparaíso, Chile. ²Universidad de Chile, Santiago, Chile. ³Instituto de Investigaciones Agropecuarias, La Platina, Santiago, Chile. ⁴Universidad de Talca, Talca, Chile

El proyecto de genómica funcional chileno en vid (DEGECHIVID) ha identificado y anotado alrededor de 120.000 ESTs, obtenidos de 15 librerías de cDNA. Esta colección de ESTs incluyen genes expresados en diferentes estados del desarrollo del fruto de dos cultivares de vid: Thompson Seedless y Carmenère. La generación de estos ESTs ha permitido obtener alrededor de 20.000 UniGenes exclusivos de este proyecto y de estos cultivares. Un grupo inicial de 5000 UniGenes fueron utilizados para construir membranas de macroarreglos con el objetivo de analizar el perfil transcripcional asociado a procesos relacionados con: i) la formación de la semilla y el efecto de ácido giberélico en Thompson Seedless; ii) el fenómeno de corrimiento en bayas de Carmenère y iii) la respuesta de hojas y bayas de de ambos cultivares al hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Los resultados preliminares de los macroarreglos han permitido identificar una serie de genes activados o reprimidos que en algunos casos determinan similitudes en el perfil transcripcional de ambos cultivares, pero en otros casos

muestran diferencias importantes entre ellos. Algunos de los genes se expresan en común en ambos cultivares, mientras que otros se expresan en forma diferencial. Estas similitudes y/o diferencias en los perfiles transcripcionales podrían estar determinando las vías metabólicas y los procesos reguladores involucrados en la formación de la semilla en ambos cultivares, así como la respuesta a *B. cinerea*. Análisis de estos resultados serán discutidos en detalle en la presentación. Proyecto Financiado por la Iniciativa Genoma Chile, FONDEF G0P1002

REGULACIÓN DE LA SELECTIVIDAD DEL ANTI-TRANSPORTADOR VACUOLAR DE Na^+/H^+ , *ATNHX1*, DE *Arabidopsis thaliana*. Eduardo Blumwald. Dept of Plant Sciences, University of California, Davis, CA 95616, USA

AtNHX1, es un antitransportador vacuolar de Na^+/H^+ de *Arabidopsis* que juega un rol central en el establecimiento de la homeostasis iónica de la célula y en la tolerancia a la salinidad de la planta. *AtNHX1* facilita la acumulación de los iones de Na^+ en las vacuolas, aliviando el efecto tóxico del sodio en los procesos metabólicos de las células. La sobre-expresión de *AtNHX1* ha servido para mejorar la tolerancia a la salinidad de una variedad de plantas, incluyendo *Arabidopsis*, tomate, maíz, arroz, trigo, algodón, etc. Igualmente, la utilización de homólogos de *AtNHX1* de otras plantas ha servido para desarrollar variedades tolerantes a la salinidad. *AtNHX1* también facilita el transporte de K^+ en la vacuola y juega roles importantes en la manutención de la homeostasis de K^+ y del pH celular, procesos que son esenciales para el desarrollo de la planta. Plantas mutantes con una inserción de T-DNA en *AtNHX1* (*nhx1*) son más sensibles a la salinidad y tienen un reducido tamaño de hojas. La transformación de las plantas *nhx1*, con un cDNA de *AtNHX1* controlado por un promotor 35S, recuperó el fenotipo de las plantas control. Los perfiles de expresión de las plantas control, las plantas *nhx1* y las plantas *NHX1::nhx1* fueron analizados usando Affimetrix ATH1 GeneChip[®] DNA microarrays. Nuestros resultados demuestran que *AtNHX1* influye en la expresión de una variedad de genes, incluyendo genes relacionados al tráfico intravesicular.

La identificación de un conjunto de proteínas (que residen en la vacuola) que interactúan con el extremo C-terminal de *AtNHX1* nos ha permitido ir comprendiendo los múltiples roles de los antitransportadores vacuolares. Una de estas proteínas, *AtCaM15*, es una calmodulina que se asocia con *AtNHX1* de una manera dependiente de la concentración de Ca^{2+} y del pH de la vacuola. La asociación de *AtCaM15* con *AtNHX1* promueve una modificación en la selectividad del antitransportador por Na^+ o K^+ . Nuestros resultados sugieren la presencia de canales intravacuolares que regulan la actividad de los antitransportadores en respuesta a cambios ambientales percibidos por las células.

REGULACIÓN DE GENES INDUCIDOS EN RESPUESTA AL ABA Y AL ESTRÉS HÍDRICO EN EL MAÍZ. Montserrat Pagés. Departamento de Genética Molecular, Instituto de Biología Molecular de Barcelona (IBMB) Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).18-26 Jordi Girona, 08034, Barcelona, SPAIN.

La hormona vegetal, ácido absísico (ABA) juega un papel importante durante el desarrollo de las plantas y en la transducción de la señal en respuesta a la sequía. Estudios moleculares sobre las regiones promotoras de los genes inducidos por ABA y en respuesta a la sequía demostraron la existencia de vías independientes para la regulación de la expresión génica mediada por elementos cis específicos. El aislamiento y la caracterización de proteínas que forman parte de la maquinaria de la transcripción de varios genes inducidos

por sequía es un paso importante en la elucidación de las diferentes vías de regulación que controlan la expresión génica de los genes inducidos por el estrés. El gene *rab17* de maíz se expresa durante el desarrollo embrionario y está inducido en respuesta al ABA y la sequía en embriones y en tejidos vegetativos. Los elementos cis ABRE y DRE están implicados en la regulación del gene por ABA y sequía. Utilizando el sistema del One-Hybrid, hemos aislado dos nuevas proteínas que se unen al elemento DRE designadas DBF1 y DBF2, que son miembros de la familia AP2/EREBP de factores de transcripción de plantas. Los resultados obtenidos demuestran que el ABA juega un papel en la regulación de la actividad de los genes DBFs, lo que sugiere la existencia de una vía de regulación génica dependiente del ABA, a través del elemento C-repeat/DRE. En paralelo, dos factores de transcripción pertenecen a la familia bZIP fueron aislados, uno de ellos (*EmBP-2*) es similar al *EmBP-1* de Trigo, mientras el otro *ZmBZ* es homólogo al *OSBZ8* de arroz. Los dos factores (*EmBP-2* y *ZmBZ*), se expresan durante el desarrollo embrionario y *EmBP-2* está inducido por ABA y estrés osmótico in hojas. La sobreexpresión de estos factores en plantas de *Arabidopsis* que contienen promotores *rab/gus* indica que estos factores podrían regular la expresión de los genes *rab* a través los elementos DRE y ABRE. Busk and Pages Plant Cell 9, 2261-2270. 1997. Kizis and Pages Plant Journal 30, 679-689. 2002. Nieve et al. Plant Mol Biol. 58 (6) 899-914 (2005)

TALLERES

ANÁLISIS Y PROYECCIONES DE LA BIOQUÍMICA EN CHILE

La comunidad científica nacional ha hecho periódicamente una reflexión sobre el estado de la ciencia en nuestro país y ha examinado su quehacer con el fin de presentar una visión sobre el progreso científico-tecnológico nacional y su opinión sobre las medidas necesarias para impulsar el desarrollo cultural y socio-económico de Chile. Durante el 2005 esta experiencia se ha repetido debido a la impresión general de que se está en un punto de inflexión que pudiera ayudar a ese desarrollo, lo que depende en gran medida de las decisiones que se tomen con respecto a las políticas nacionales de ciencia y tecnología. Las partes centrales de ese estudio comprenden el conocimiento de los indicadores que marcan la calidad, amplitud, productividad, inserción internacional y la preparación de los cuadros que crean conocimientos en las diferentes grandes áreas de las ciencias básicas y aplicadas en Chile y el análisis del desarrollo de 11 de estas áreas en cuanto a su progreso en el tiempo, a las fortalezas y debilidades que presentan y a su incidencia en el desarrollo científico-tecnológico nacional.

En este Taller se pretende presentar una buena parte de esos aspectos para el caso de la Bioquímica y abrir un debate amplio y profundo en la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular con el fin de generar un documento para el caso de la Bioquímica que complementa, por su importancia dentro de las ciencias básicas, a los señalados anteriormente.

Las presentaciones son:

1. La Bioquímica del siglo 21. Jorge Babul (Coordinador)
2. Formación de Bioquímicos. Alejandro Reyes
3. Enseñanza de la Bioquímica. Ana Preller
4. Portal www.bioquimica.cl. Matías Gutiérrez
5. Programas de doctorado. Cecilia Rojas
6. Grupos y temas de investigación. Jaime Eyzaguirre
7. Publicaciones. Victoria Guixé
8. Metodologías y equipamiento. Ricardo Cabrera
9. El sector productivo. Rafael Vicuña
10. Discusión

EDUCACION DE LA BIOQUIMICA

JMOL: NUEVA PLATAFORMA PARA MOSTRAR LA ESTRUCTURA DE BIOMOLÉCULAS EN ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN. Angel Herráez, Dep. Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares, España. angel.herraez@uah.es

El uso de medios informáticos para visualizar modelos moleculares en tres dimensiones y de forma interactiva posee virtudes bien conocidas para el estudio y enseñanza de Bioquímica, así como en investigación. Muestra de ello es la existencia de innumerables páginas web con este formato, así como los visores de consulta de Protein Databank y otras similares. La plataforma más extendida para este propósito es el software conector Chime (<http://www.mdchime.com>) que, por su integración en la página web, permite un fácil acceso y consulta por el público. Este programa, no obstante, se ha visto limitado en los últimos años por su incompatibilidad total o parcial con los nuevos navegadores de internet y con sistemas operativos distintos de Microsoft Windows. Este impedimento puede ahora superarse gracias al desarrollo de la versión 10 de Jmol (<http://jmol.org>), una miniaplicación Java que es compatible con todos los sistemas operativos y programas navegadores y que admite la colección de instrucciones existentes para RasMol y Chime, además de nuevas funcionalidades en la representación de moléculas. A ello se suma una superior calidad gráfica, reconocimiento de más formatos moleculares y, en particular, su carácter de software libre y de código abierto, que asegura su futura evolución y compatibilidad.

IMPLEMENTACION DE SISTEMA INALAMBRICO PARA ANALISIS BIOINFORMATICO EN LABORATORIOS DE BIOQUIMICA. MOVI-LAB. (Wireless system implementation for bioinformatics analyses in biochemistry lab). L. Garrido¹, V. Solís¹, H. Mendoza², S. Riveros¹, Fernando D. Gonzalez-Nilo². ¹DITYM, Universidad de Talca y ²Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca.

El advenimiento de nuevas tecnologías inalámbricas ha permitido aplicar sistemas computacionales en diferentes ambientes. En este mismo sentido, la Bioinformática ha tenido un desarrollo importante durante los últimos años, a la par con la implementación de grandes servidores computacionales y el análisis de grandes bases de datos de genes y estructuras. En la actualidad, esta información es aplicada en diversos laboratorios, realizando desde análisis de secuencias hasta complejos análisis estructurales de cientos de átomos. Nuestro objetivo es permitir a los alumnos de un laboratorio acceder a toda la información en Internet. Para ello, hemos implementado una plataforma computacional basada en sistemas iPAQs intercomunicadas con redes inalámbricas, de esta forma los estudiantes pueden acceder a bases de datos sin la necesidad de instalar un computador de gran volumen en el mesón de trabajo, con el riesgo de accidentes.

Como primera etapa de este proyecto se ha desarrollado un sistema de pruebas de entrada a laboratorio, que el alumno contesta en una iPAQ. El sistema permite que el alumno pueda leer su pregunta y analizar las alternativas manejando personalmente el material suplementario, tales como estructuras 3D, hipertextos, etc. Las respuestas son analizadas en un servidor central y la nota es enviada directamente al computador del profesor de laboratorio. De esta forma se disminuye considerablemente el número de horas del profesor en corrección de pruebas y preparación de estas, así mismo el profesor tiene por ejemplo, una rápida idea del nivel de conocimientos que manejan sus alumnos. Financiamiento:

Proyecto HP Mobile Technology for Teaching Grant Initiative – 2004, Higher Education Edition, Latin America region.

INNOVANDO EN LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS BASICAS- APRENDIZAJE DE LA BIOQUIMICA

Moya-León M. A. y Herrera, R. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

El Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología es una Unidad que imparte docencia de cursos biológicos a diversas Unidades de la Universidad de Talca. Es así como los cursos de Biología Celular, Bioquímica, Biología Molecular y Fisiología Vegetal son impartidos cada año a distintas carreras. Durante los años se ha observado una escasa motivación por parte de los alumnos, lo que dificulta el aprendizaje de los contenidos. Como una manera de mejorar esta dificultad estamos implementando innovaciones en el proceso aprendizaje. Una de ellas, consiste en implementar un sistema de autoaprendizaje, en el cual el alumno construye el conocimiento a partir de sus propias experiencias experimentales. A través de financiamiento del Programa Mecsup se ha equipado una sala de docencia con 45 computadores conectados a la red. Además se han adquirido sensores de pH, temperatura, luz, O₂, CO₂, y conteo de gotas, que permiten realizar experiencias experimentales en la misma sala o en terreno.

Un concepto que se ha abordado con esta estrategia es ¿En qué consiste y cuál es el efecto de una solución tampón? Mediante el uso de un sensor de pH y a través de una experiencia experimental muy sencilla, los estudiantes pueden aprender el concepto de solución tampón. El aprendizaje es complementado con cuestionarios que pretenden profundizar el concepto y visualizar el rol de las soluciones tampones en los sistemas biológicos.

Financiamiento: Proyecto Mecsup TAL 0203.

INCORPORACIONES

INCORPORACIONES I

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES INVOLUCRADOS EN LA PRODUCCIÓN DE MICROCINA E492 (Regulation of the expression of genes involved in the production of microcin E492) Corsini¹ G, Lagos² R. ¹Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. ²Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La microcina E492 es un antibiótico polipeptídico de 7886 Da, producido y secretado por *Klebsiella pneumoniae* RYC492. A diferencia de otras bacteriocinas, la microcina E492 se sintetiza en forma activa sólo en fase exponencial de crecimiento. Los determinantes genéticos necesarios para la producción de microcina E492 activa fueron clonados, secuenciados y expresados de *E. coli*. Los genes *mceA* y *B* participan en la síntesis e inmunidad de la microcina, los genes *mceG* y *H* en la exportación y los genes *mceC*, *D*, *I* y *J* están implicados en la maduración de la microcina. Se determinó que el sistema productor de microcina E492 está constituido por 10 genes, organizados en 7 unidades transcripcionales: *mceBA*, *mceC*, *mceD*, *mceE*, *mceF*, *mceHG* y *mceJIHG*. Empleando la técnica de extensión del partidor se caracterizaron las regiones promotoras de estas unidades transcripcionales. Los patrones de transcripción en distintas etapas de crecimiento y condiciones de cultivo se analizaron mediante RT-PCR, hibridación del tipo Northern y fusiones traduccionales. Se determinó que los genes *mceA*, *B*, *D*, *E*, *F*, *G* y *H* se transcriben tanto en fase exponencial como estacionaria de crecimiento. Los genes *mceI* y *J* presentan una pérdida de expresión en fase estacionaria, en tanto que en esta misma fase el gen *mceC* mostró una disminución de tres veces en sus niveles expresión. La disminución de la transcripción de estos genes daría cuenta de la pérdida de producción de microcina activa en fase estacionaria. Se estudió además el efecto del hierro en la expresión de los genes implicados en la producción de microcina encontrándose que este metal no tiene ningún efecto sobre la expresión a excepción del gen *mceC*. La carencia de hierro disminuye la expresión de este gen y su regulación no está asociada a la unión de la proteína reguladora Fur a la región promotora.

FONDECYT 1020757 y 2000016.

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE COMPONENTES DEL LCR EN ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS (Differential expression of LCR component in neurological diseases). García L. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La paraparesia espástica tropical (TSP/HAM) es una patología neurológica asociada a la infección linfocitaria con el virus HTLV-I. Compromete al SNC con una degeneración axomielínica lentamente progresiva de los haces córtico-espinales. Hay controversia respecto a si esta enfermedad es de tipo neurodegenerativa o inflamatoria, ya que hay pacientes que presentan paraparesia, pero sin respuesta inmunológica frente a la infección viral, y pueden sobrellevar la enfermedad por más de 20 años. Es este trabajo se quiso investigar si en el líquido cefalorraquídeo (LCR) se identifica un patrón de marcadores diferencial respecto a un grupo control sano y otro con enfermedades neurológicas inflamatorias (OEN). En el LCR se detectó y cuantificó **a)** metaloproteinasas (MMP-2, MMP-3 y MMP-9), **b)** proteínas de matriz extracelular laminina (LM) y fibronectina (FN) y **c)** proteína del citoesqueleto axonal neurofilamento cadena liviana (NF-L) por análisis inmunológico; y **d)** marcadores de estrés oxidativo (NO²⁻ y NO³⁻ como metabolitos estables del óxido nítrico por electroforesis

capilar, y proteínas nitradas por detección inmunológica). Los resultados concluyeron que MMP-2, MMP-3, MMP-9 y LM se encontraron significativamente elevadas respecto al grupo control sano y significativamente disminuidas respecto al grupo OEN; FN sólo se encontró elevada en el grupo TSP/HAM; el NF-L, las proteínas nitradas NO²⁻ y NO³⁻, se encontraron significativamente elevados sólo en el grupo OEN, respecto a los otros dos grupos. Estos resultados apuntan a que TSP/HAM no presenta en el LCR un patrón característico de enfermedades inflamatorias.

Financiamiento: proyecto Fondecyt N° 1000-874. Beca PG/88/2003.

ASPECTOS ENZIMÁTICOS DEL METABOLISMO DE LA AGMATINA EN EL CEREBRO DE LA RATA: CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA AGMATINASA (Enzymatic aspects of agmatine metabolism in rat brain: Cloning and characterization of an agmatinase). Uribe E¹, García MA², Enríquez S¹, Martínez F², Nualart F², Carvajal N¹. ¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, ²Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Aunque se acepta a la agmatina como un neurotransmisor, aún se desconocen muchos aspectos enzimáticos de su metabolismo en el cerebro de mamíferos. Esto debido, especialmente, a las dificultades para detectar la enzima que intervendría en su degradación (agmatinasa: agmatina amidinohidrolasa, EC 3.5.3.1). Recientemente, se ha informado el clonamiento de un gen de agmatinasa humana, cuyo ARN mensajero se detecta predominantemente en el hígado y que expresa una proteína prácticamente inactiva. En este trabajo, se muestra la detección inmunohistoquímica de agmatinasa en el cerebro de ratón, así como el clonamiento y expresión de una agmatinasa cerebral enzimáticamente activa. La proteína recombinante posee un peso aproximado de 58 KDa, tiene un pH óptimo de 9,0, una *K_m* de 2 ± 0,2 mM para agmatina y requiere de Mn²⁺ para su actividad catalítica. A pesar de las similitudes funcionales, la identidad de secuencia aminoacídica con la agmatinasa de *E. coli* y la humana es sólo de un 10 %. Los estudios inmunohistoquímicos mostraron la presencia de la enzima en cuerpos neuronales y en células gliales, especialmente en la zona del hipotálamo, lo que concuerda con la localización descrita para su sustrato, la agmatina.

Fondecyt 2990039.

COMPLEJOS TRANSCRIPCIONALES QUE REGULAN GENES INVOLUCRADOS EN LA TOLERANCIA A DESECACIÓN (Transcriptional complexes regulating genes involved in desiccation tolerance). Casaretto JA¹, Schoonheim P², deBoer, AH². ¹Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile; ²Department of Structural Biology, Vrije Universiteit, The Netherlands

Las proteínas LEA están involucradas en conferir tolerancia a la desecación en plantas. Su expresión está regulada por programas de desarrollo en semillas, estrés ambientales y por la acción de la hormona ácido abscísico (ABA). Dos factores transcripcionales, uno de tipo bZIP (HvABI5) y otro con dominio B3 (HvVP1) son necesarios para activar el gen *Lea* de cebada *Hva1* y mediar la señal por ABA. HvABI5 es capaz de unir directamente regiones reguladoras cis, sin embargo se desconoce el rol de HvVP1 en la activación de dicho promotor. Se ha evaluado la posible función que tendrían proteínas 14-3-3 como adaptadores del complejo transcripcional que activa al promotor de *Hva1*. Estas proteínas regulan múltiples procesos celulares en todos los organismos multicelulares y en plantas actúan como reguladores de enzimas y canales de membranas. Varias isoformas de proteínas 14-3-3 de cebada han sido

identificadas y todas parecen afectar la activación del promotor de *HvA1*. Dos de ellas han demostrado poder interactuar con HvABI5 en ensayos de doble híbrido. Este modelo de complejo transcripcional también ha sido investigado en genes *Lea* de *Arabidopsis thaliana*. Estos resultados son evidencia del rol de proteínas 14-3-3 en la regulación de la expresión génica en plantas.

INCORPORACIONES II

GIBERELINAS Y TUBERIZACIÓN. (Gibberellin and tuberization) Rodríguez-Falcón M.¹, Prat S.². ¹Instituto de Biología vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, ²CSIC, España.

La capacidad de producir tubérculos de algunas plantas es un proceso de desarrollo que depende de múltiples factores externos e internos. El fotoreceptor fitocromo B y la hormona giberelina (GA) son importantes factores reguladores endógenos de este proceso de desarrollo. Hasta ahora no se ha definido el mecanismo de acción de la fitohormona giberelina en el proceso de tuberización y los trabajos previos apuntan a que GA inhibe la tuberización.

Por otra parte, el gen *gai* se encuentra en mutantes enanos de *Arabidopsis* que tienen hojas verde-oscuro, y son incapaces de responder a la aplicación de GA, por lo cual se han caracterizado como plantas insensibles a GA. Dicho gen codifica una proteína represora de la vía de señal de GA, que, a diferencia del gen normal, carece del dominio DELLA, y produce un efecto dominante que inhibe la respuesta al estímulo hormonal de GA.

Para estudiar el papel que desempeña la GA en la tuberización se empleó el gen mutante *gai* como agente supresor de la respuesta a GA. Para ello se generaron plantas transgénicas de *S. tuberosum* que llevan el gen *gai* bajo el control del promotor constitutivo 35S. En estas plantas se analizaron las características de tuberización (desarrollo de estolones, inicio de la tuberización, forma, tamaño y peso de los tubérculos).

Se encontró que la carencia de GA produce un adelanto en la tuberización y estolones anómalos en morfología y depósito de almidón y tubérculos de menor o igual peso que los controles. Estos resultados concuerdan con el rol inhibitorio de la GA en la tuberización y permiten proponer un modelo de acción de esta hormona en la determinación de la zona apical del estolón que debe desdiferenciarse para producir un tubérculo.

CHARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS QUE RECONOCEN SECUENCIAS PROMOTORAS DE GENES LIGNINOLÍTICOS DE *Ceriporiopsis subvermispora* (Characterization of proteins that recognize promoter sequences of ligninolytic genes from *Ceriporiopsis subvermispora*). Polanco R.¹ Lobos S.², Vicuña R.³. ¹Dpto. de Cs. Biológicas. Fac. Cs. de la Salud. Univ. Andrés Bello. ²Dpto. de Bioquímica y Biol. Molec. Fac. de Cs. Químicas y Farm. Univ. de Chile. ³Dpto. de Genética Molec. y Microbiología, Fac. Cs. Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

C. subvermispora es un hongo que posee un sistema ligninolítico compuesto por manganeso peroxidadas y lacasas; los genes que codifican para estas enzimas, *Cs mnp2b* y *Cs lcs1*, son regulados a nivel transcripcional por Mn^{2+} y Cu^{2+} , respectivamente. Sus regiones promotoras contienen varios sitios MRE y sólo una secuencia tipo ACE en la región 5' de *Cs lcs1*. Fragmentos del promotor de *Cs lcs1*, que contienen estos sitios, fueron reconocidos específicamente por proteínas de extractos nucleares del hongo y esta interacción mostró una

dependencia por Mn^{2+} y Cu^{2+} . Regiones acotadas del promotor de *Cs mnp2b* también fueron reconocidas de forma específica mostrando una dependencia por Mn^{2+} . Un posible regulador de la expresión de *Cs lcs1* sería un miembro de la familia de factores transcripcionales tipo ACE1. Usando la información genómica del hongo *Phanerochaete chrysosporium*, se aislaron dos genes relacionados estructuralmente con esta familia: *Pc-ace1* y *Cs ace1*, de *P. chrysosporium* y *C. subvermispora*, respectivamente, los cuales presentaron una identidad cercana al 85%. El cDNA de *Pc-ace1* permitió complementar una cepa de levadura carente del factor de ACE1, demostrando que *Pc ace1* codifica para un factor de transcripción funcional. La alta identidad mostrada con *Cs ace1* sugiere que éste también codificaría para un factor transcripcional funcional del tipo ACE1.

Proyectos FONDECYT 2000088 y 1030495. MIFAB

CHARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y CINÉTICA DE LA AGMATINASA DE *Escherichia coli*: MUTAGENESIS SITIO DIRIGIDA Y MODELAJE MOLECULAR (Molecular and Kinetic characterization of agmatinase from *E.coli*: site directed mutagenesis and molecular modelling studies) Salas M. Carvajal N. Dpto. Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas Universidad de Concepción. Instituto de Bioquímica, Fac. Cs. Universidad Austral.

La agmatinasa (EC 3.5.3.11) cataliza la hidrólisis de la agmatina en putrescina y urea. Considerando las homologías entre las reacciones catalizadas por la agmatinasa y la arginasa, las relaciones estructurales entre sus sustratos, y la existencia de residuos conservados en sus secuencias aminoácidas, se considera que estas enzimas pertenecen a una misma familia de proteínas (familia de las *arginasas*). Para un mejor conocimiento de los aspectos funcionales y estructurales de la agmatinasa, en este trabajo se realizaron estudios de modificación química y mutagénesis sitio dirigida y se desarrolló un modelo estructural basado en la homología de la agmatinasa de *Escherichia coli* con la arginasa. Los resultados obtenidos sugieren la existencia de un centro bimetálico de Mn^{2+} en la agmatinasa *E. coli*, en este centro binuclear, uno de los Mn^{2+} sería esencial para la catálisis, mientras que el segundo cumpliría una función moduladora. Por otro lado, los estudios de modificación química y mutagénesis sitio dirigida, apoyan la participación de la His163 y del Asp153 en la función catalítica de la enzima. En los estudios de modelaje molecular por homología de secuencia, se tomó como estructura de referencia a la arginasa de *B. Caldovelox*. El análisis del modelo sugirió la posibilidad de que inserciones introducidas en la mutante triple, incorporando los aminoácidos que formen la correspondiente región en arginasa pudieran originar especies enzimáticas capaces de utilizar la arginina como sustrato. Los cambios introducidos en esta zona no dieron los resultados esperados. Este es un aspecto en el cual debiera insistirse incluyendo la probabilidad de introducir especies químicas entre arginasa y agmatinasa. Fondecyt 2990049. DId UACH.

UNA REVOLUCIÓN CIENTÍFICA EN CHILE: LA TEORÍA DEL ESTADO VIVO DE GILBERT N. LING. ESTUDIOS MECANOCUÁNTICOS. (A scientific revolution in Chile: The living state theory of Gilbert N. Ling. Quantum-mechanical studies.) Saragoni V. Unidad de Genética Forense. Servicio Médico Legal, Santiago.

En este trabajo de incorporación a la SBBMCH, el autor ha estimado presentar sus resultados de 1996 en el contexto de la Teoría del Estado Vivo (1962, 1964) del Dr. Gilbert N. Ling. El Dr. Ling, con más de 200 trabajos y 60 años de actividad, ha estado proclamando a través de Internet, su revolución científica que replantea nuestro modelo de célula.

Lo anterior, tiene consecuencias inmediatas para la fisiología y los tratamientos médicos. En esencia, el potasio intracelular no se encuentra libre sino que ligado a proteínas; el agua intracelular formaría multicapas polarizadas desde el citoesqueleto, modificando sus propiedades y haciendo que la partición de los solutos entre los espacios intra- y extracelular esté dada por su tamaño molecular; las proteínas, en tanto máquinas moleculares y macromoléculas informativas, poseen sitios de unión, cardinales, para ligandos: sus reguladores; son éstos, de dos tipos: repulsores o atractores de densidad electrónica. Puesto que los cambios transconformacionales son la base de la regulación alostérica que dirige nuestro metabolismo, el modelo prevé la comunicación molecular a distancia a través de moléculas de agua y rompe con muchas de las indeterminaciones clásicas actuales: el sistema biológico aparece como un todo coherente. En la base de estas polarizaciones estructurales está el efecto inductivo de las cadenas laterales aminoacídicas sobre los esqueletos peptídicos, el cual fue modelado independientemente por el autor, a través de cálculos mecanocuánticos semiempíricos (teoría de los orbitales moleculares, nivel PM3) en 1994 y 1995. Sólo recientemente, Dwyer (2005) ha vuelto a considerar el potencial significado de estos efectos electrónicos; sin embargo, la obra de Ling aparece otra vez ignorada y la lógica científica, fragmentada.

COMUNICACIONES LIBRES

COMUNICACIONES LIBRES I

ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DEL PROMOTOR DEL RETROTRANSPÓSÓN TLC1.1 FRENTE A SEÑALES QUÍMICAS Y A PATÓGENOS. (Structural and functional analyses of the TLC1.1 retrotransposon promoter in response to chemical signals and pathogens) Salazar M, Ruiz-Lara S. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

El promotor P270 ha sido aislado de la LTR 5' del retrotransposón TLC1.1 de *Lycopersicon chilense*. En este fragmento de 270 pares de bases se encuentran los elementos en cis que regulan la expresión del gen reportero GUS en plantas transgénicas de tabaco en respuesta a herida. En dicha respuesta esta involucradas dos cajas de respuesta a etileno (ERE) presentes en este promotor. En el presente trabajo se analizó el rol de las cajas ERE en la respuesta inducida frente a la infección de los patógenos *Botritis cinerea*, *Erwinia carotovora* y *Pseudomonas syringae*. Los resultados indican que para *E. carotovora* y *P. syringae* las cajas ERE son fundamentales tanto para respuesta local como sistémica, mientras que para *B. cinerea*, ellas son complementarias a otros elementos regulatorios aún no identificados en P270. Conjuntamente, ensayos en plantas transgénicas de tabaco, en los cuales se ha adicionado exógenamente agentes químicos relacionados con el sistema de transducción de señales, ha revelado que las cajas ERE son necesarias en la respuesta inducida por etileno, ácido salicílico y ácido abscísico. No obstante, estas cajas no son indispensables para la respuesta inducida por auxinas, metiljasmonato y peróxido de hidrógeno. Estos resultados permiten deducir que el promotor P270 presenta diferentes elementos en cis capaces de dar respuesta a distintos tipos de estrés biótico y abiótico.

Financiamiento: Centro Regional de Biotecnología Silvoagrícola. Programa de Investigación en Biotecnología DIAT-UTalca.

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES INDUCIDA POR EXPOSICIÓN A COBRE EN ÁLAMO (*Populus deltoides*). Analysis of the differential gene expression caused by copper stress in poplar (*Populus deltoides*). Guerra F¹, González E¹, Duplessis S², Kohler A², Martin F², Lebed P¹, Tapia J³. ¹Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile. ²Centre INRA de Nancy, Francia. ³Instituto de Química de Recursos Naturales, Universidad de Talca.

El cobre (Cu) es esencial para el desarrollo normal de las plantas, sin embargo, en altas concentraciones puede causar estrés oxidativo y limitar el crecimiento y sobrevivencia. El estudio de los genes que regulan su tolerancia y acumulación es importante para el mejoramiento genético de árboles para la fitorremediación de desechos con Cu. A fin de analizar la expresión de esta clase de genes, la respuesta de un clon de *Populus deltoides* fue estudiada bajo estrés por Cu. Plantas obtenidas de estacas enraizadas fueron crecidas en un sistema hidropónico por cuatro semanas y tratadas con Cu (30 y 60 µM) por 12 y 24 h. RNA extraído desde raíces fue analizado utilizando microarreglos de cDNA de 4.6 k, compuestos por ESTs de raíces y hojas. 249 genes fueron regulados significativamente de manera simultánea en los cuatro tratamientos evaluados. Dentro de los genes inducidos destacan algunos que codifican para proteínas de defensa contra insectos y patógenos, síntesis de pared celular y metabolismo de glutatión. Entre los reprimidos se identificaron genes correspondientes a metalotioneínas y acuaporinas, entre otros. Por otra parte, el análisis de la distribución del Cu

en las plantas indicó una acumulación significativa a nivel de raíces. En términos generales, los resultados sugieren la presencia de un mecanismo basado en la exclusión de Cu, en el cual el ciclo del glutatión-ascorbato podría tener un rol importante.

RECONOCIMIENTO DEL EXTREMO 5'SS DEL INTERMEDIARIO DE INTEGRACIÓN POR LA INTEGRASA DE MOLONEY MULV. (Recognition of the 5'ss end of the integration intermediate by Moloney MuLV integrase). Vera J, García A, Fajardo H, León O. Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La integración del DNA viral en el genoma del huésped es esencial para la replicación de los retrovirus. Esta reacción es realizada por la integrasa que se encuentra formando parte del virión. Debido a las características de la reacción esta enzima ha sido considerada como un interesante blanco terapéutico por lo que es intensamente investigada. Sin embargo no se conocen aún los determinantes de la especificidad de las distintas integrasas.

En nuestro laboratorio hemos llevado a cabo una serie de estudios destinados a identificar sitios de interacción entre la integrasa de Moloney MLV y sustratos, de manera de construir un modelo de interacción. En este trabajo se presentan resultados de foto entrecruzamiento y mutagénesis sitio específica que indican que el intermediario de DNA formado durante la integración interactúa con una región flexible del dominio central. Se discuten estos resultados en relación a otros modelos generados recientemente. Financiado por FONDECYT 1040409.

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES DE ESPERMIDINA SINTETASA Y SU RELACIÓN CON EL PROCESO DE ABCISIÓN EN *Vitis vinifera*. (Differential expression of spermidine synthase genes and its relationship with the abscission process in *Vitis vinifera*). Alva O, Cabrera N, Poblete F, González-Villanueva E. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

La abscisión de bayas en la vid es un proceso fisiológico que se traduce en la caída de frutos en desarrollo durante la etapa de fructificación o cuaja, lo que puede generar severas pérdidas de la producción. Dos de las más importantes cepas tintas cultivadas en Chile, *Carménère* y *Merlot*, son particularmente sensibles a este fenómeno por lo que han sido clasificadas como variedades de alta abscisión. Estudios realizados tanto en *Vitis vinifera* cv. *Merlot* (alta abscisión) y cv. *Pinot Noir* (baja abscisión), han señalado que la abscisión se correlaciona con la inhibición en la síntesis y acumulación de espermidina, poliamina que posee un rol regulatorio en variados procesos de desarrollo vegetal.

Con el fin de establecer si la alta susceptibilidad a la abscisión exhibida por la cepa *Carménère* está relacionada con la actividad transcripcional de los genes que codifican para la enzima espermidina sintetasa (SPDSyn), se ha analizado el perfil de expresión de tales genes en esta cepa. Análisis Southern del genoma de variedades tintas de *Vitis vinifera* cv. *Cabernet sauvignon* y cv. *Carménère* han permitido determinar que existen dos genes para SPDSyn. Los genes de *Carménère*, *VvSPDSyn1* y *VvSPDSyn2*, han sido aislados y secuenciados. En estos presentan 71% de homología entre ellos y homologías mayores a 64% con genes de SPDSyn de otras especies vegetales. Análisis de expresión a través de qPCR y Northern indica que ellos son diferencialmente expresados durante el desarrollo frutal.

Financiado por: Universidad de Talca y Proyecto Genoma de la Vid Chile G02P1002

IDENTIFICACIÓN DE SECUENCIAS DE INSERCIÓN A GRAN ESCALA EN GENOMAS MICROBIANOS (Large Scale, Genomic Identification of Insertion Sequences in Microbial Genomes).

Riadi G¹, Gonzalez D¹, Holmes D².
¹Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca; ²Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, Universidad Andrés Bello.

Un gran desafío en la anotación de genomas es la identificación de secuencias de inserción (IS) activas y fósiles. Estos pueden abarcar una porción significativa de un genoma, en los humanos en particular, sobre el 20%. Las ISs poseen gran variabilidad de secuencia y mecanismos de transposición. 21 familias han sido descritas hasta ahora. Además es difícil identificar IS fósiles, donde alguna vez hubo un elemento IS activo que entro al genoma y se inactivó debido a un cúmulo de mutaciones. Adicionalmente, las ISs pueden entrar a los genomas vía transferencia lateral y ser inactivadas debido a la diferencia de preferencia de codones entre el organismo donante y el organismo receptor de la IS. Muchos programas de búsqueda de genes se entrenan con una colección de genes "típicos" de un genoma e ISs que no siguen un uso de codones de acuerdo a esos genes pueden resultar de difícil identificación. Dados esos desafíos, buscamos un método de identificación de ISs y sus fósiles en genomas a gran escala. Un algoritmo construye matrices de puntaje de posición específica (PSSM) de todas las familias de ISs basado en alineamientos múltiples y el algoritmo BLOCKS de búsqueda de bloques de aminoácidos hiperconservados. Esas PSSM fueron usadas para buscar en el genoma de *E. coli* K-12, sistema modelo, los elementos IS y luego ver las similitudes con otros elementos en bases de dato como Genbank y Swissprot. PSSM son un mecanismo sencillo y sensible para encontrar IS ya que son capaces de encontrar patrones cortos con bajo nivel de conservación.

Trabajo financiado por proyecto Fondecyt 1050063.

CARACTERIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PEQUEÑOS RNAs NUCLEOLARES C/D (snoRNAs C/D) EN *Arabidopsis thaliana*.

(Characterization of the C/D snoRNAs expression in *Arabidopsis thaliana*.) Letelier I^{1,2}, Holuigue L², Jordana X², Echeverría M¹. ¹Laboratoire Génome et Développement des Plantes, UMR-5096 CNRS/UPVD/IRD, Université de Perpignan Via Domitia, Francia. ²Departamento Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los snoRNAs son una numerosa familia de RNAs pequeños no codificantes que participan en el procesamiento y modificación de otros RNAs como rRNAs, tRNAs y snRNAs. Una de estas modificaciones es la metilación del RNA blanco en la posición 2'-O-ribose. Este tipo de modificaciones son guiadas por snoRNAs de la subclase C/D. En *Arabidopsis* se han identificado más de 100 genes de snoRNAs C/D. Su organización genómica muestra que poseen variadas estrategias de expresión, algunas únicamente encontradas en plantas. Poco se conoce acerca de los promotores y la regulación de la expresión de snoRNAs C/D. En este trabajo hemos construido una genoteca de cDNAs especializada en snoRNAs C/D de *Arabidopsis*. En ella identificamos un grupo de snoRNAs C/D con expresión asociada a tejidos con activa proliferación celular. En un análisis in silico de sus putativas secuencias promotoras identificamos motivos TATA, Telo y GCCCR. Interesantemente, estos motivos son encontrados en el promotor de genes que codifican proteínas involucradas en la biogénesis ribosomal, sugiriendo una mecanismo común dependiente de RNA polimerasa II para coordinar la transcripción de genes de snoRNAs. En el futuro, estudiaremos la funcionalidad de estos elementos cis presentes en el promotor de snoRNAs.

Financiado por proyectos 1020593 Fondecyt-CONICYT y C03B03 ECOS-CONICYT.

NUEVOS SITIOS PARA LA REGULACIÓN ALOSTÉRICA DEL TRANSPORTADOR FACILITATIVO GLUT1

(Novel sites for allosteric regulation of the facilitative hexose transporter GLUT1) Valenzuela X, Raddatz N, Pérez A, Bulnes P, Reyes AM. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Los azúcares como glucosa atraviesan la membrana plasmática en células animales a través de proteínas integrales conocidas como GLUTs, de las cuales el transportador GLUT1 es el más estudiado. Estudios cinéticos de transporte con diversos inhibidores de la actividad funcional de GLUT1, han mostrado que existen sitios accesibles por la cara externa (exofacial) e interna (endofacial) del transportador que participan en la unión de estos ligandos. En este trabajo nosotros mutamos diversos residuos en dos segmentos del transportador que muestran homología con sitios de unión de nucleótidos en otras proteínas; uno de orientación exofacial y otro endofacial y las analizamos funcionalmente en ensayos trans-cero de entrada y ensayos de equilibrio en ovocitos de *Xenopus*. Dos mutantes exofaciales, G116A y K117Q, muestran una afinidad disminuida o ausente frente a quercetina, una flavona que se liga a un sitio accesible por la cara exofacial. Por otra parte las mutantes endofaciales T335L y H337N muestran una muy reducida respuesta frente a citocalasina B, un clásico inhibidor de GLUT1 que se une por la cara endofacial de la proteína. Otras mutantes en estas zonas (G111A, L338T) no muestra diferencias con la proteína natural expresada en el mismo sistema. Las mutantes no exhiben diferencias significativas en cuanto a afinidad por el sustrato, niveles de expresión o sensibilidad frente a otros inhibidores. Estos antecedentes nos permiten sugerir que estos residuos forman parte de sitios de unión exofacial para flavonas y endofacial para citocalasina B en el transportador de glucosa GLUT1 (Financiado por proyecto FONDECYT 1020908).

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE MUTANTES DE *Trichoderma harzianum* Y EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES ANTAGÓNICAS CONTRA FITOPATÓGENOS DEL TOMATE

(Biochemical characterization of mutants of *Trichoderma harzianum* and evaluation of their antagonistic properties against tomato phytopathogens). Ríos JC¹, Polanco R¹, Valderrama L², Montealegre J, Pérez LM.¹Dpto. de Cs. Biológicas. Fac. Cs. de la Salud. Univ. Andrés Bello. ²Dpto. de Sanidad Vegetal, Fac. Cs. Agronómicas. Universidad de Chile.

Trichoderma harzianum es un hongo que actúa como biocontrolador de numerosos fitopatógenos del sistema radical del tomate. Un aislado silvestre de este hongo (*Th-650*) controla parcialmente, en campo e in vitro, a patógenos del tomate tales como *Rhizoctonia solani*, *Pyrenochaeta lycopersici* y *Phytophthora nicotianae*. Para mejorar las características antifúngicas de *Th-650* éste fue mutado con nitrosoguanidina. Se analizó la actividad de enzimas hidrolíticas producidas por el parental y sus mutantes (NG-6, NG-7, NG-10 y NG 11) en cultivos líquidos usando quitina blanca, glucanos de levadura, glucosa y micelio de los fitopatógenos como únicas fuentes de carbono. NG-6 mostró un aumento significativo de la actividad endoproteasa sólo al usar a los fitopatógenos como fuente de carbono. NG-10 produjo la mayor actividad β 1,3 endoglucanasa en todas las fuentes de carbono analizadas. Todos los mutantes mostraron un patrón isoenzimático de endoquitinasas cuya mayor actividad se concentró en el rango de pH de 5.0 a 7.0 y se pudo distinguir el aumento preferencial de una isoforma

dependiendo del mutante y de la fuente de carbono utilizada, destacando NG-7. Todas estas actividades fueron mínimas o indetectables al usar glucosa como fuente de carbono. Ensayos en invernadero demostraron que NG-7 controla la infección producida por *R. solani* más eficazmente que *Th-650* en dos cultivares de tomate, lo cual correlaciona con la mayor actividad de endoquitinasas que presenta este mutante. Proyecto FONDECYT 1040531-2004.

COMUNICACIONES LIBRES II

INDUCCIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GEN *ompW* DE *Salmonella enterica* serovar TYPHIMURIUM EN RESPUESTA A ESTRÉS POR METIL VIOLÓGENO.

(Induction of the expression of the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium *ompW* gene in response to stress by methyl viologen). Gil E¹, Foix P¹, Muñoz C¹, Bittner M², Ipinza F¹, Gutiérrez J¹, Mora G², Saavedra C¹. ¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad Andrés Bello, ²Laboratorio de Microbiología, Universidad Andrés Bello.

Las porinas bacterianas son canales acuosos que permiten la difusión pasiva de solutos hidrofílicos, sean éstos nutrientes o tóxicos. Esto explica en parte la propiedad de estos microorganismos para desarrollarse en variados ambientes, su resistencia a drogas, algunos aspectos de su patogenicidad, etc. El producto del gen *ompD* de *S. typhimurium* (STM) actuaría como un canal de membrana externa para la expulsión del compuesto metil viológeno (MV). En esta función participaría también la bomba de expulsión de la membrana interna (MI) YddG. Este fenómeno ocurriría independientemente de otra bomba de MI involucrada en resistencia a MV, SmvA. Además, mutantes $\Delta tolC$ exhiben un aumento en la resistencia a MV con respecto a la cepa silvestre. Esto sugiere la existencia de otra porina, que podría funcionar en ruta con SmvA en la expulsión de MV en STM. Un fuerte candidato para ello es el producto del gen *ompW*.

Mediante ensayos con sensidiscos se comprobó que una cepa *ompW* es 4 veces más sensible al tóxico que una cepa silvestre, fenotipo que es complementable genéticamente con el gen *ompW*. Al reemplazar el gen *ompW* en el genoma de STM por el gen reportero *lacZ* se comprobó que en presencia de MV, el gen *ompW* se induce 2 veces. Estos resultados sugieren que el gen *ompW* de *Salmonella* participa en resistencia a MV y que en presencia del tóxico se induce su expresión.

FONDECYT 1050037, 1020485 – Proyecto UNAB DI 56-04

GENERACIÓN DE RESISTENCIA AL ATAQUE DEL PULGÓN VERDE DEL DURAZNERO (*Myzus persicae persicae*) MEDIANTE PÉPTIDOS ANTIBIÓTICOS DE ACUMULACIÓN EN EL FLOEMA EN PLANTAS TRANSGÉNICAS DE *Arabidopsis thaliana*.

(Resistant generation to green peach aphid (*Myzus persicae persicae*) by means of antibiotic peptides accumulation in phloem of *Arabidopsis thaliana* transgenic plants). Le-Feuvre R¹, Ramírez C², Meza-Basso L². ¹Centro de Investigación en Biotecnología Silvoagrícola (CIBS), Universidad de Talca. ²Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología Universidad de Talca.

Los áfidos son insectos fitófagos que se alimentan del floema vegetal y producen daños a la planta infectada. El

pulgón verde del duraznero constituye un problema para muchas especies vegetales por su capacidad para desarrollar resistencia a plaguicidas químicos, su activa polifagia y es un vector de enfermedades virales. *Myzus persicae* es viable gracias a una bacteria endosimbionte del género *Buchnera* que es cercana a *E. coli*. Agentes antibióticos que eliminan a *E. coli* deberían tener una acción similar sobre el endosimbionte.

Se seleccionaron tres péptidos antibacterianos (indolicidina, magainina II y cecropina P1). Se analizó la supervivencia de *Myzus persicae* a diferentes dosis de estos antibióticos, mediante ensayos de dieta artificial. De acuerdo al valor de LD50 se seleccionó indolicidina.

Se sintetizó el gen de indolicidina a partir de oligonucleótidos sintéticos. Utilizando el vector binario PBI121, se construyeron dos vectores para la expresión del gen de indolicidina en *Arabidopsis thaliana*. Uno bajo el control del promotor CaMV 35S y el segundo, para la expresión restringida a tejido floemático (promotor CoYMV). Los resultados sugieren que indolicidina reduce la sobrevivencia de *Myzus persicae* afectando su endosimbionte. Se discute el posible mecanismo de acción de este compuesto, y el uso potencial de plantas transgénicas resistentes al ataque de este áfido.

Financiamiento: CIBS, Programa CONICYT/Regiones

PARTICIPACIÓN DEL METABOLISMO DEL AMINOÁCIDO CISTEÍNA EN LA TOLERANCIA BACTERIANA A K_2TeO_3 : UN MODELO PARA LA RECUPERACIÓN DE FUNCIONES CELULARES DAÑADAS POR ESTE TÓXICO.

(Participation of cysteine metabolism in the bacterial tolerance to K_2TeO_3 : a model for recovery of tellurite-damaged cell functions). Fuentes D¹, Fuentes E¹, Sandoval M¹, Pérez JM¹, Araya MA², Saavedra CP³, Vásquez C¹. ¹Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, ²Roche Chile, ³Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello.

El mecanismo de resistencia bacteriana a telurito de potasio (K_2TeO_3) es de interés para diversos grupos de investigación en el mundo. Resultados generados hace poco en el laboratorio nos ha enfocado en el rol potencial que parece jugar el metabolismo de la cisteína en el fenómeno de tolerancia a K_2TeO_3 observado en clones recombinantes de *Escherichia coli* que expresan determinados genes metabólicos de *Geobacillus sterothermophilus* V. Los resultados indican que el K_2TeO_3 generaría, entre otros, daños relacionados a estrés oxidativo los que a su vez involucrarían un desbalance redox dependiente de la depleción de tioles importantes para el metabolismo celular como el glutatión.

Los genes *cobA*, *cysK* e *iscS* de *G. sterothermophilus* V se introdujeron en cepas de *E. coli* en las que el gen reportero *lacZ* se induce por daño. Cuando estas cepas recombinantes se exponen a tóxicos como K_2TeO_3 , H_2O_2 o metil viológeno, la expresión de la β -galactosidasa disminuye en relación a cepas parentales isogénicas que no llevan estos genes.

Por otro lado se construyó genes reporteros clonando las zonas promotoras (300 pb) de los genes mencionados en un vector carente de del promotor del gen *lacZ*. Se encontró una expresión diferencial de β -galactosidasa en presencia y en ausencia de estos tóxicos. Finalmente, estudios de expresión de algunos genes pertenecientes al reguión *Cys* de *E. coli* mostraron una expresión aumentada frente a K_2TeO_3 respecto a los controles y a la misma cepa en ausencia del tóxico. Estos resultados apoyan la tesis de la importancia de genes, así como de intermediarios metabólicos relacionados al aminoácido cisteína, en el fenómeno de tolerancia a K_2TeO_3 . FINANCIADO POR FONDECYT 1030234.

RIBOZIMAS DE HORQUILLA Y MARTILLO INACTIVAN EL mRNA DE LA DESHIDROGENASA ALDEHÍDICA MITOCONDRIAL (ALDH2) DE RATA: HACIA UNA TERAPIA GÉNICA PARA EL ALCOHOLISMO (Hairpin and hammerhead ribozymes silence the mRNA for rat mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH2) towards gene therapy for alcoholism) Lobos L^{1,2}, Muñoz C², Israel Y², Sapag A². ¹Programa de Magister en Bioquímica, ²Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Un tratamiento farmacológico habitual para el alcoholismo es generar una aversión al consumo de alcohol con disulfiram. Este fármaco inactiva eficazmente la deshidrogenasa aldehídica mitocondrial (ALDH2), enzima que participa en el metabolismo del etanol, pero es muy tóxico. Una alternativa farmacológica es imitar el efecto del disulfiram inactivando el mRNA de la ALDH2 con ribozimas, RNAs catalíticos pequeños capaces de disminuir la síntesis proteica por ocupación o degradación del mRNA.

Se ensayaron ribozimas de horquilla y martillo dirigidas hacia un mismo blanco del mRNA de la ALDH2 en células de hepatoma de rata en cultivo. Se lipofectaron células H4-II-E-C3 con plasmidios portadores de genes de ribozimas y se midió la actividad de la ALDH2 espectrofotométricamente en extractos celulares. Se usaron ribozimas control para determinar posibles efectos de antisentido. La ribozima de horquilla disminuyó en 42% ($p < 0,005$) la actividad de la ALDH2, siendo un 18% adjudicable a un efecto de antisentido. En cambio, la ribozima de martillo redujo en 20% la actividad de la ALDH2 exclusivamente por acción de antisentido.

Una ribozima de horquilla dirigida a los nucleótidos 1553 a 1571 del mRNA de la ALDH2 de rata es un buen candidato para experimentos *in vivo* enfocados hacia el desarrollo de un fármaco génico para el alcoholismo. Beca Universidad de Chile PG06504, Iniciativa Científica Milenio P99 031F, FONDECYT 1040555.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL GEN CODIFICANTE DEL TRANSPORTADOR DE YODO DE LA TIROIDES DEL ROEDOR *Aulyscomys boliviensis* DEL ALTIPLANO ANDINO. (Isolation and characterization of the coding gene for the iodide symporter of the *Aulyscomys boliviensis* Thyroid from the Andes highland) Arriagada A¹, Navarro C, Valdés C, Valenzuela M², Cabello G², Molina A², Gompert B³, Riedel C³. ¹Universidad Andrés Bello, ²Universidad de Tarapacá, ³University Collage London.

El Na⁺/I⁻ symporter (NIS) media el transporte activo de yoduro, primer paso en la biosíntesis de las hormonas tiroideas. Mamíferos que habitan ambientes pobres en yodo, como el altiplano de los Andes, desarrollan hipotiroidismo. Sin embargo, el roedor *Aulyscomys boliviensis* que es autóctono de esta zona no es hipotiroideo, a pesar de tener un 40% menos de yoduro en el plasma. Esto sugiere que el transporte de yoduro debería ser más eficiente en esta especie. El presente estudio pretende caracterizar el transportador de yoduro de este roedor e identificar modificaciones en la secuencia aminoacídica que expliquen su adaptación a un ambiente pobre en yodo. Fracciones de membrana de la glándula tiroidea de *A. boliviensis* y del ratón de laboratorio fueron analizadas por Western blot. En *A. boliviensis* el anticuerpo anti-NIS detectó un polipéptido de ~65 kDa y en el ratón se detectó un polipéptido de ~100 kDa. El análisis de la secuenciación parcial del cDNA del roedor mostró un 88% y un 92% de identidad respecto al NIS de ratón en la secuencia nucleotídica y aminoacídica respectivamente. Los tres sitios de glicosilación se encuentran conservados en NIS de *A. boliviensis* y en el COOH terminal de NIS se observaron cambios en algunos residuos de treoninas por alaninas.

Nuestros resultados muestran que la diferencia en el peso molecular aparente de NIS de *A. boliviensis* no se debe a su secuencia aminoacídica. Esta diferencia puede deberse al distinto grado de glicosilación de la molécula. Las diferencias aminoacídicas encontradas y/o el grado de glicosilación podrían conferir a NIS mayor eficiencia para transportar yoduro y de esta manera permitirle a este roedor una mejor adaptación para vivir en un ambiente escaso en yodo. Proyecto Interno UNAB DI-01-05/R

EL HONGO *Penicillium purpurogenum* SECRETA TRES ISOENZIMAS DE ARABINOFURANOSIDASAS. (The fungus *Penicillium purpurogenum* secretes three arabinofuranosidase isoenzymes). Ravanal C¹, Fritz M¹, de Ioannes P², Carvallo M², Braet C^{2,3}, Navarrete M¹, Prades M¹, Eyzaguirre J^{1,2}. ¹Laboratorio de Bioquímica, Departamento Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago. ²Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago. ³Department of Biochemistry, National University of Ireland, Galway, Irlanda.

El hongo *Penicillium purpurogenum* al crecer separadamente en diversas fuentes de carbono (xilano de avena, coseta de remolacha y coronta de maíz) secreta al medio de cultivo tres arabinofuranosidasas (ABF 1, 2 y 3), que presentan actividad frente a los sustratos artificiales p-nitrofenil α -L arabinofuranósido (pNPAr) y metil umbeliferil α -L arabinofuranósido. Al comparar la producción de ABF total por el hongo en las fuentes de carbono indicadas se observó que el mejor inductor es la coseta de remolacha. Las tres isoenzimas fueron purificadas a homogeneidad y caracterizadas. Los pesos moleculares de las ABFs, determinados por SDS-PAGE, son 58 kDa, 70 kDa y 47,5 kDa, respectivamente. Su punto isoeléctrico, estimado por isoelectroenfoque, es de 6,5, 5,1 y 5,8. La determinación de estructura cuaternaria sugiere que las 3 ABFs son monoméricas. Los parámetros cinéticos frente a pNPAr muestran que la KM para la ABF 2 es de 98,6 μ M, mientras que las KM para ABF1 y 3 son más altas (1,23 mM y 0,65 mM respectivamente). Las temperaturas óptimas para las ABFs 1, 2 y 3 son de 50, 60 y 50 °C. El análisis de la estabilidad térmica mostró que la ABF 2 es la enzima más estable de las tres, manteniendo un 50 % de su actividad por 4 horas a 50 °C. Las ABFs 2 y 3 actúan sobre sustratos naturales como el arabinano de remolacha y el arabinoxilano, liberando en ambos casos arabinosa, lo que se aprecia por cromatografía en capa fina, y se cuantifica por un método enzimático. La ABF 2 puede actuar sobre arabinano desramificado, no así la ABF 3, indicando que la ABF 3 sólo tiene actividad exoarabinofuranosidasa. La secuencia aminoacídica de las ABF 1 y 2 muestra que se trata de proteínas producidas por genes diferentes.

Fuentes de financiamiento: FONDECYT, Universidad Andrés Bello y DIPUC.

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL DURANTE LA ACLIMATACIÓN A ESTRÉS SALINO EN *Lycopersicon chilense*. (Analysis of differential gene expression during salt stress acclimation in *Lycopersicon chilense*). Tapia G, Yañez M, Ruiz-Lara S. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

Los efectos de la salinidad en las plantas, junto con los mecanismos de tolerancia que presentan algunos vegetales, han sido aspectos ampliamente estudiados, especialmente en especies halófitas. Sin embargo, dadas las características particulares de este tipo de plantas, aún existen muchas interrogantes por resolver. En este sentido las plantas glicófitas que muestran ciertos niveles de tolerancia a estrés salino

aparecen como modelos más apropiados para la elucidación de tales interrogantes.

Lycopersicon chilense es una especie silvestre de tomate que habita en zonas desérticas y semidesérticas del norte de Chile. Esta especie glicófito se encuentra sometida a múltiples tipos de estrés abiótico, entre ellos el estrés salino. En condiciones de laboratorio, *L. chilense* es capaz de aclimatarse a concentraciones salinas relativamente altas. Durante este periodo de aclimatación se activa un programa de expresión génica diferencial. Entre los genes sobreexpresados se encuentran los que codifican para una proteína de transferencia de lípidos, una ATPasa plastidial, una 4-cumarato-CoA ligasa y una proteína PR10. Algunas de ellas han mostrado ser reguladas, además, por ABA o peróxido de hidrógeno. El rol de las proteínas codificadas por estos genes podría ser crucial en la adaptación de *L. chilense* al estrés salino.

Financiamiento: Fundación para la Innovación Agraria (FIA) Proyecto Biot-01-A-065. Centro de Investigaciones en Biotecnología Silvoagrícola (CIBS). Programa de Investigación en Solanáceas (DIAT-UTALCA)

ESTRUCTURA DEL FICOBILISOMA de *Gracilaria chilensis*. (Structure of the Phycobilisome of *Gracilaria chilensis*) Burgos F, Bruna C, Pouchucq L, Wandersleben T, Martínez-Oyanedel J, Bunster M. Grupo de Biología Estructural, Lab. Biofísica Molecular, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Los ficobilisomas son complejos supramoleculares encargados de atrapar y conducir energía luminosa hacia los centros de reacción fotosintéticos. Están formados por ficobiliproteínas, responsables de la captación y conducción de la luz y proteínas de unión o "linkers" que participan en el ensamblaje y mantención de la estructura del complejo. *Gracilaria chilensis* es una alga eucarionte que presenta ficobilisomas más complejos que los descritos para cianobacterias y algas unicelulares. La energía luminosa es conducida desde las ficobiliproteínas Ficoeritrina a Ficocianina componentes de varillas hasta alofococianina que es el principal componente del centro o "core", desde donde la luz es conducida a los centros de reacción fotosintética. Se aisló ficobilisomas funcionales y mediante cambios en fuerza iónica se logró separar subcomplejos, que posteriormente fueron analizados para identificar el tipo de linkers asociados a las diferentes ficobiliproteínas. Para ello se utilizó centrifugación en gradiente, electroforesis en geles denaturantes e identificación de los polipéptidos mediante MALDI-TOF. Se identificó Polipéptidos de 33KDa asociado a la interacción varilla -core, 40KDa asociado a varillas, 31KDa asociado a Ficoeritrina correspondiente a la subunidad γ y 110KDa que promueve la interacción entre el core y la membrana del tilacoide. Este último en conjunto con micrografías electrónicas permiten señalar que el core en los ficobilisomas de *Gracilaria chilensis* está formado por 5 cilindros compuestos por Alofococianina. Además se logró detectar una actividad reductasa asociada a estos complejos.

Proyecto DIUC: 205.037.002-1.0

COMUNICACIONES LIBRES III

CONDUCTANCIAS CATIONICAS IDENTIFICADAS POR PATCH-CLAMP EN *Trypanosoma cruzi*: POSIBLE ROL DURANTE EL PROCESO APOPTÓTICO (Cationic conductances identified by patch-clamp in *Trypanosoma cruzi*: possible role during apoptosis). Jiménez V., Galanti N, Riquelme G. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Trypanosoma cruzi, protozoo hemoflagelado agente causal de la enfermedad de Chagas, presenta un ciclo de vida con tres estadios celulares: epimastigote, forma extracelular y replicativa, que se encuentra en el intestino del insecto vector; amastigote, intracelular obligado y replicativo, presente en las células de los hospederos definitivos, y trypomastigote, extracelular y no replicativo, que circula en el torrente sanguíneo de los mamíferos parasitados. La apoptosis es un mecanismo de muerte celular controlada en el cual la pérdida de la homeostasis iónica desempeña un papel fundamental. El aumento citoplasmático de calcio y la disminución de la concentración intracelular de potasio permiten la activación de proteasas y nucleasas encargadas de la degradación controlada de las macromoléculas celulares.

Para establecer el rol de las conductancias cationicas en la inducción de apoptosis, aislamos membranas de epimastigotes de *T. cruzi* por centrifugación diferencial. Estas membranas fueron reconstituídas en liposomas gigantes y su actividad electrofisiológica fue registrada por patch-clamp

Identificamos dos canales cationicos; el más frecuente presenta una relación corriente-voltaje no lineal, con una conductancia de 65 ± 4 pS ($n=12$) y 45 ± 1.9 pS ($n=12$) para potenciales positivos y negativos, respectivamente. Este canal es escasamente permeable a cationes divalentes y presenta una secuencia de permeabilidades $\text{NH}_4^+ \approx \text{Cs}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$ para cationes monovalentes. Las vías conductivas descritas podrían responder a las sugeridas como responsables de la inducción de apoptosis en otros trypanosomátidos.

Financiado por RTPD Network (SIDA/SAREC); Proyecto Anillo ACT 29 y FONDECYT 1040546.

INFLUENCIA DEL ESTADO REDOX EN LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS POR HORMONA TIROÍDEA (T3) EN HÍGADO DE RATA. (Influence of the redox state in protein expression by thyroid hormone (T3) in rat liver) Varela P., Fernández V, Videla LA. Programas de Farmacología Molecular & Clínica y Biología Celular & Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La administración de T3 genera una respuesta calorigénica con una alta velocidad de consumo de O_2 e inducción de estrés oxidativo hepáticos, que se encuentra asociada con un aumento en la actividad de unión del factor de transcripción NF- κ B al DNA, mediada por IKK, que regula la expresión de genes redox-sensibles. Este trabajo estudia la influencia del estado redox sobre la expresión de la superóxido dismutasa dependiente de manganeso (MnSOD), la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (mGPDH) y el traslocador de nucleótidos de adenina (ANT 2) mitocondriales por T3 (dosis diarias de 0,1mg/kg rata por hasta tres días consecutivos). Entre las 56-72 h, la expresión de la MnSOD (Western blot) aumentó significativamente por T3, efecto que fue eliminado por la administración de α -tocoferol (100mg/kg i.p.) previo a T3. La expresión (RT-PCR) de la mGPDH aumenta tempranamente (4-12 h) y la de ANT 2 aumenta tardíamente (24-72 h) por T3, efectos que no son influenciados por el pretratamiento con α -tocoferol o N-acetilcisteína. Estos resultados sugieren que la expresión de la MnSOD por T3

involucra un mecanismo redox, que podría ser secundario a la inducción de genes trazadores de acción tiroidea (mGPDH y ANT 2) que generan estrés oxidativo, los cuáles son gatillados por complejos hormona-receptor que interactúan con elementos de respuesta a T3 o por factores intermediarios activados por T3.

Financiado por FONDECYT 1030499 y FONDECYT 1050131.

PERFIL DE ENERGIA LIBRE Y DE POTENCIAL ELECTROSTATICO EN EL VESTIBULO INTRACELULAR DE LOS CANALES DE K⁺ DEPENDIENTES DE VOLTAJE.

(Free energy and electrostatic potential profile in the inner vestibule of voltage gated potassium channels). González W§, Berneche S‡, Latorre R*, González-Nilo FD§. §Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, ‡ Structural Biology Division, Biozentrum, University of Basel, Switzerland, *Centro de Estudios Científicos (CECS), Valdivia.

Los canales de K⁺ dependientes de voltaje, a pesar de tener un filtro de selectividad muy conservado que permite discriminar Na⁺ por sobre K⁺, presentan diferentes escalas de conductancia. Se ha observado que al mutar las cargas E321(N) y E324(N), emplazadas en el vestibulo intracelular de hSlo, un canal de alta conductancia, ésta se reduce a la mitad. En cambio, en la doble mutante D261N-E264Q del vestibulo extracelular de hSlo no se observan cambios significativos en la conductancia (González-Nilo y cols., Biophysical Society Meeting, Long Beach, USA, 2005). Estas variaciones en la conductividad de las mutantes se han asociado con cambios en el potencial electrostático. También se postula que los diferentes valores de conductancia de los canales de K⁺ están determinados por la distribución de estos iones en ambos vestibulos. Para comprobar la hipótesis anterior, se construyó un modelo por homología de hSlo basado en la estructura cristalina de Kv1.2 (Long y cols Science 309; 897-903, 2005) y MthK. Usando Potencial Mean Force (PMF) se calculó el perfil de energía libre de un ion de K⁺ en la posición S4 saliendo por el vestibulo intracelular de hSlo, de la doble mutante E321N-E324N y del canal Kv1.2. Los resultados indican que en el canal hSlo de alta conductancia hay una mayor afinidad en la posición S4 del vestibulo intracelular respecto a la doble mutante estudiada por Brelidze y cols. (PNAS 100; 9017-9022, 2005) y al canal de baja conductancia Kv1.2.

Financiado por Fondecyt 1040254.

REGULACION POR HEMO DE UNA GLUTAMIL-tRNA SINTETASA EN *Acidithiobacillus ferrooxidans*. (A GluRS that is regulated by heme). De Armas M, Levicán G, Katz A, Orellana O. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

La glutamil-tRNA sintetasa (GluRS) cataliza la formación de glutamil-tRNA (Glu-tRNA), que es sustrato común de la biosíntesis de proteínas y de tetrapirroles (hemo, clorofila y otros) por la vía C5. Esta última vía, comienza con la reducción del glutamato del Glu-tRNA a glutamato semialdehído por la glutamil-tRNA reductasa (GluTR), que se considera la primera enzima de la formación de ácido δ -amino levulinico, el precursor universal de la biosíntesis de tetrapirroles.

En *Acidithiobacillus ferrooxidans* una bacteria acidófila que participa en la biolixiviación de minerales, los niveles intracelulares de hemo, varían considerablemente dependiendo de las condiciones de cultivo. En condiciones en que se eleva la concentración intracelular de hemo, se observa una disminución del contenido de GluTR y una inactivación reversible y específica de la actividad de la GluRS1, una de las dos GluRS de este microorganismo. La actividad de la GluRS1 recombinante se inhibe por hemo, un análogo de hemo y esta inhibición se revierte por NADPH. Esto resultados indican

que las funciones de la GluRS y la GluTR se regulan coordinadamente por el contenido de hemo y que en *A. ferrooxidans*, la GluRS es la primera enzima en la biosíntesis de hemo.

Financiado por Fondecyt (1020087), Universidad de Chile y DAAD.

ESTUDIOS DEL ESTADO DE OLIGOMERIZACION DE FICOBILIPROTEINAS POR HERRAMIENTAS BIOINFORMATICAS

(Studies of the oligomerisation state of Phycobiliprotein by bioinformatics tools). Martínez-Oyanedel J, Sepúlveda J, Cabrera JR, Burgos F, Figueroa M, Bunster M. Laboratorio Física Molecular. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción

Los ficobilisomas son complejos proteicos encargados de la captación y conducción de la luz en algas rojas y cianobacterias. En *Gracilaria chilensis* estos ficobilisomas están formados por: Ficoeritrina (PE), Ficocianina (PC) y Aloficocianina (APC), cuya unidad básica es un heterodímero ($\alpha\beta$). Las secuencias y las estructuras terciarias de ambas subunidades en las tres proteínas son muy semejantes, como hemos demostrado al resolver las estructuras tridimensionales de Ficoeritrina y Ficocianina por difracción de rayos-X (1eyx, 2bv8). La unidad funcional para Ficoeritrina y Ficocianina, en todas las estructuras cristalinas resueltas, corresponde a un hexámero del heterodímero, sin embargo Aloficocianina se presenta solo como un trímero del heterodímero.

En el presente estudio mediante herramientas bioinformáticas y análisis estructural se revisaron los residuos involucrados en las superficies de interacción en Ficocianina y Ficoeritrina, con el objeto de encontrar los patrones conservados en secuencia, potenciales electrostáticos y residuos vecinos. La comparación de los patrones de hexámeros y trímeros nos permitieron encontrar las diferencias que causarían la diferencia en el estado de oligomerización entre las ficobiliproteínas.

Estas diferencias están siendo analizadas por estudios de docking molecular de mutantes, *in silico*, de PC para tratar de inducir la hexamerización de la Aloficocianina.

Financiamiento Proyecto DIUC 205.037.002-1, DIUC 205.037.004-1.

ANALISIS DE LA EXPRESION DE GENES PARA PROTEINAS DE FOTOSISTEMAS EN PLANTAS DE *Lycopersicon chilense* EXPUESTAS A BAJAS TEMPERATURAS.

(Expression analysis of genes encoding photosystems proteins in cold-stressed *Lycopersicon chilense* plants). Chilian RJ, Pobleto F, González E. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

Cuando las plantas son expuestas al efecto combinado de bajas temperaturas y altas intensidades lumínicas se produce una sobreexcitación del aparato fotosintético que conduce a la producción y acumulación de radicales libres, generando estrés oxidativo. La disipación del exceso de energía en forma de calor (NPQ) es uno de los más importantes mecanismos protectores frente a este tipo de estrés, participando activamente en este proceso proteínas de la superfamilia LHC.

Para el estudio de los mecanismos genético-moleculares involucrados en la respuesta de NPQ se ha seleccionado como modelo a la planta nativa *Lycopersicon chilense*, tanto debido a que ella posee un alto grado de adaptación a diversos factores medioambientales que propician estrés oxidativo como a su cercanía filogenética con otras solanáceas cultivables lo que ofrece la posibilidad de desarrollar estrategias para la obtención de plantas tolerantes a estrés oxidativo. La expresión de genes de la superfamilia LHC ha

sido analizada en esta especie. Los resultados obtenidos indican que aquellos genes que codifican para las proteínas Lhca1, ELIP y PsbS, son diferencialmente expresados bajo condiciones de estrés oxidativo. La contribución de tales proteínas al proceso de NPQ y por consiguiente, a la tolerancia al estrés oxidativo, esta siendo analizada en plantas transgénicas de *Lycopersicon esculentum* que sobreexpresan los genes respectivos.

Financiado por Programa de Investigación en Biotecnología (DIAT-Utalca) y Proyecto FIA BIOT-01-A-065.

SUPLEMENTACION PERINATAL CON DIFERENTES FORMAS DE ACIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA) EN LA INCORPORACION DEL ACIDO GRASO EN SEGMENTOS CEREBRALES DE LAS CRIAS: UN MODELO EXPERIMENTAL EN RATAS. (Perinatal docosahexaenoic acid (DHA) supplementation in the fatty acid accretion in brain segments of the pups: the rat as experimental model). Valenzuela A, Golusda C, Sanhueza J, Muñoz P, Nieto S. Laboratorio de Lípidos y Antioxidantes y Laboratorio de Cromatografía, INTA, Universidad de Chile.

El ácido docosahexaenoico (22:6, omega-3, DHA) es fundamental para el desarrollo del sistema nervioso y visual en los mamíferos. El DHA es aportado por la madre durante la gestación y la lactancia debido a que el feto no tiene la capacidad para sintetizarlo. Actualmente se sugiere la suplementación perinatal con DHA. Sin embargo, no se ha establecido cual es la forma más efectiva. Mediante un diseño experimental en ratas, se suplementaron hembras con DHA en la forma de triglicérido (de microalgas), fosfolípido (de yema de huevo) y monoglicérido (obtenido por hidrólisis enzimática de aceite marino), antes y durante la gestación, y se evaluó la efectividad de los suplementos para incrementar el contenido de DHA en diferentes segmentos cerebrales de las crías (corteza frontal, cerebelo e hipocampo). El mejor efecto de incremento de DHA se obtuvo partir de los fosfolípidos y en forma secundaria con el monoglicérido, siendo ambos más efectivos que el triglicérido y que los controles que recibieron aporte isocalórico de ácido oleico. Actualmente estamos evaluando la adquisición de mejores capacidades de aprendizaje y de memorización de las crías como producto de la suplementación con DHA a través del test en cajas de Skinner.

Financiado por FONDECYT proyecto 1050515 y por ORDESA, España.

MODELAMIENTO MOLECULAR DE LA CYSK DE *Geobacillus stearothermophilus* V: PREDICCIÓN DE UN POSIBLE MECANISMO CATALITICO. (Molecular simulation of the CysK from *Geobacillus stearothermophilus* V: prediction of a putative catalytic mechanism). Arenas M², González D², Muñoz C¹, Pérez JM³, Encinas MV³, Vásquez C³, Saavedra C¹. ¹Laboratorio Microbiología Molecular, UNAB; ²Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, UTALCA; ³Laboratorio Microbiología Molecular, USACH.

La enzima cisteína sintasa (CysK) de *Geobacillus stearothermophilus* V es un homodímero que participa en el último paso de la biosíntesis del aminoácido cisteína. Utilizando modelamiento comparativo se construyó un modelo estructural de la enzima que fue validado y refinado mediante dinámica molecular. Comparando el modelo con la información cristalográfica disponible de la CysK de *S. typhimurium* se consideró una serie de residuos que probablemente estaría participando en la catálisis enzimática. Para abordar este punto se construyó mutaciones sitio dirigidas, tanto *in silico* como *in vitro*. La dinámica molecular de 1 ns para la CysK silvestre mostró que las moléculas de agua permanecen cercanas al centro de reacción. A su vez, la dinámica

molecular de la mutante Tyr298Phe, mostró que la distancia entre el átomo O3' del α -aminoacrilato y una molécula de agua vecina aumentó en comparación con la proteína silvestre. Este evento es producto que en la mutante Tyr298Phe no se genera la red de puentes de H necesaria para mantener su posición, consecuencia directa de la ausencia del grupo hidroxilo del residuo Y298. La observación experimental es que la enzima mutante carece de actividad.

Financiado por FONDECYT 1030760, 1030234 y 1040254.

COMUNICACIONES LIBRES IV

AISLAMIENTO Y EXPRESION DE GENES DE *Streptococcus phocae* PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA RECOMBINANTE CONTRA EL SINDROME DE COCACEAS GRAM POSITIVAS EN SALMON (Isolation and expression of genes of *Streptococcus phocae* for the development of a recombinant vaccine against the gram-positive cocci syndrome in salmon) Manosalva H*, Wilhelm V*, Roseblatt M*, Miquel A**, Valenzuela,PD*. Fundación Ciencia para la Vida*, Instituto MIFAB* y BiosChile I.G.S.A**.

Una de las enfermedades emergentes que presenta la salmonicultura en Chile es el síndrome de cocáceas Gram positivas causado por *Streptococcus phocae*, que infecta principalmente al salmón del Atlántico. El control de esta enfermedad se basa en el uso cuantioso de antibióticos lo cual puede producir bacterias resistentes y trastornos ecológicos. Debido a esto, hemos aislado y expresado los genes de HSP70, HSP60, Sod y la lipoproteína receptora de fierro FeB de este patógeno para el desarrollo de un vacuna recombinante contra esta enfermedad.

Los genes se aislaron mediante PCR, utilizando partidores diseñados en base a secuencias conservadas de estos antígenos presentes en otras bacterias filogenéticamente relacionadas. Estos genes fueron clonados, secuenciados y analizados. Se expresaron las proteínas correspondientes en *E. coli*, y se inyectaron las cuatro proteínas recombinantes en ratones por separado y en una mezcla que contenía igual concentración de cada una. La respuesta inmune mediante ELISA y *Western blot* indica que las proteínas HSP70, HSP60, Sod y FeB son inmunogénicas en ratón, aún siendo inyectadas como una mezcla. Estas proteínas son interesantes candidatos para el desarrollo de una vacuna recombinante contra el síndrome de cocáceas Gram positivas y su eficacia esta comenzando a ser evaluada en salmón del Atlántico.

FONDEF-CONICYT AQ-A411010

ESPECIFICIDAD DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA (PEPC) DE *Saccharomyces cerevisiae*: CALCULOS DE PERTURBACIÓN DE ENERGÍA LIBRE. (Specificity of *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase: free energy perturbation calculations). González-Nilo FD§, Venable RM¶, Cardemil E‡.§ Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, ¶Biophysics Laboratory, Center for Biologics Evaluation and Research, Rockville, USA., ‡ Departamento de Ciencias Químicas, Universidad de Santiago de Chile.

La PEPCK, dependiendo de su origen, usa nucleótidos de adenina o guanina como sustratos. En este trabajo se estudia la especificidad de la enzima de *S. cerevisiae* utilizando métodos de simulación molecular de perturbación de energía libre (FEP). El cálculo contempla el análisis de 100 ventanas durante la mutación ATP/GTP y ADP/GDP (CHARMM31b1).

Como era de esperar, los cálculos muestran que la enzima tiene una mayor preferencia por A(D/T)P que por G(D/T)P. Asimismo, el G entre ADP y GDP indica una mayor especificidad que en el caso ATP/GTP. Estos resultados muestran que la interacción de los nucleótidos puede ser dividida en dos partes: 1) interacciones electrostáticas de los grupos fosfato, y 2) interacciones específicas de la base nitrogenada. En el caso de los nucleósidos trifosforilados las interacciones específicas de la base se ven apantallas por las fuertes interacciones electrostáticas con el sitio activo. En el caso de los nucleósidos difosforilados este apantallamiento es menor, dando más peso a las interacciones específicas de la base. Desde este punto de vista la enzima es más específica por ADP que por ATP. El análisis estructural muestra una reorganización del sitio activo, en donde la posición del P β en el GDP es diferente que en el ADP, lo cual podría generar impacto en la catálisis de la transferencia del fosforilo del PEP al GDP. Se observa un muy buen empaquetamiento de la base, donde participa Arg457, la que estabiliza la adenina a través de interacciones tipo stacking (π - π) y π -cation. En el caso del GDP, esta interacción se pierde, disminuyendo así la afinidad de la PEPCK por este nucleótido. Financiado por FONDECYT 1030760.

PERÓXIDO DE HIDRÓGENO INDUCE SEÑALES DE CALCIO, ACTIVACIÓN DE CREB Y ERK Y MODIFICACIÓN REDOX DEL RECEPTOR DE RYANODINA EN NEURONAS DE HIPOCAMPO Y N2A (Hydrogen peroxide induces calcium signals, CREB and ERK activation and redox modification of ryanodine receptors in hippocampal and N2a neurons)*#Kemmerling U, \$Muñoz P, *Müller M, *Sánchez G, *Carrasco MA, *Hidalgo C. *CEMC, ICBM, Fac. Medicina, \$ Facultad de Ciencias, U. de Chile; #Fac. Cs de la Salud, Universidad de Talca.

Ca²⁺ proveniente de depósitos intracelulares, como el retículo endoplásmico (RE), está involucrado en la regulación de la expresión génica neuronal. Los receptores de ryanodina (RyR) son canales de Ca²⁺ del RE altamente susceptibles a modificaciones redox de tal manera que la oxidación del canal aumenta su actividad y su reducción la disminuye. Para investigar si la estimulación oxidativa de los RyR genera señales de Ca²⁺, hemos medido la generación de estas señales en respuesta a una estimulación con 200 μ M H₂O₂ en neuronas de hipocampo y N2a. Neuronas cargadas con fluo-3AM fueron analizadas mediante registros en tiempo lineal en un microscopio confocal invertido. Ambos cultivos respondieron al H₂O₂ con un aumento de Ca²⁺, que fue completamente prevenido por ryanodina en concentraciones inhibitorias (50 μ M). Para investigar si los reguladores transcripcionales sensibles a Ca²⁺, ERK y CREB, son activados por H₂O₂ hemos analizado sus niveles de fosforilación mediante Western-blot e inmunohistoquímica. Ambos tipos celulares presentaron un aumento en los niveles de fosforilación de CREB y ERK, el cual fue significativamente inhibido por ryanodina 50 μ M. Para determinar si H₂O₂ induce modificaciones redox del RyR, hemos analizado los niveles de glutationilación del canal; los que aumentan. Proponemos que la activación redox de los RyR contribuye a la generación de señales de Ca²⁺ intracelulares, que activan a ERK y CREB, y que podrían tener un rol importante en la expresión génica involucrada en la plasticidad neuronal. FONDAP Centro de Estudios Moleculares de la Célula 15010006 y FONDECYT 1030988.

PRODUCCION DE COMPUESTOS VOLATILES EN PERAS cv PACKHAM'S TRIUMPH Y SU RELACION CON LA MADUREZ Y ACTIVIDAD DE AAT (Production of volatile

compounds by Packham's Triumph pears and its relation with the ripening stage and AAT activity). Moya-León MA, Vergara M, Nuñez A, Bravo C, Moggia C. (1) Laboratorio de Fisiología Vegetal, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, (2) Centro de Pomáceas, Universidad de Talca.

Dentro de los parámetros que influyen sobre la calidad de un fruto y una mejor aceptación por parte de los consumidores, está el aroma. Este es impartido por compuestos volátiles de diversa naturaleza química, siendo muy importantes por su abundancia e impacto sensorial los ésteres. Estos son producidos a través de reacciones de esterificación entre alcoholes y acil CoAs, catalizadas por la enzima Alcohol Acil Transferasa (AAT).

Para estudiar el efecto de madurez sobre la producción de volátiles se cosechó frutos de peras cv. Packham's Triumph, en dos épocas (E1 óptima y E2 tardía), las que se almacenaron en frío convencional por hasta 6 meses. Se evaluó a cosecha y luego de salida de almacenaje (2, 4 y 6 meses), la tasa de producción de etileno, tasa de emisión de volátiles (mediante HS-SPME) y la actividad de AAT, realizando también paneles sensoriales con la fruta. Los resultados indican que coincidente con el avance de madurez de la fruta, evidenciado por un aumento de la tasa de producción de etileno, se observa un aumento en la tasa de producción de volátiles. La actividad AAT también se incrementa, alcanzando su máxima actividad luego de dos meses de almacenaje. Por otro lado, fruta de cosecha tardía es capaz de producir mayor cantidad de compuestos volátiles que una cosecha más temprana. Los panelistas percibieron que fruta almacenada por dos meses presenta mejor calidad organoléptica que aquella almacenada por más tiempo, coincidiendo con una mayor producción de compuestos volátiles de alto impacto en el aroma, pudiendo ser éstos identificados y cuantificados.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1030764

INDUCCIÓN DE APOPTOSIS POR DROGAS NATURALES Y SINTÉTICAS EN EPIMASTIGOTES Y TRYPOMASTIGOTES DE *Trypanosoma cruzi* (Induction of apoptosis in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes and trypomastigotes by natural and synthetic drugs) Jiménez V^{1,2}, Paredes R², Sosa MA¹, Galanti N². ¹IHEM, UNCuyo, Argentina- ²ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La enfermedad de Chagas es causada por *Trypanosoma cruzi*, protozoo hemoflagelado de ciclo de vida indirecto. Los hospederos intermediarios son insectos hematófagos, que actúan como vectores para la transmisión de la enfermedad al hombre y otros mamíferos.

En la búsqueda de posibles blancos terapéuticos, estudiamos la muerte celular programada en *T. cruzi*. La apoptosis es un proceso regulado, evolutivamente conservado y fundamental para la homeostasis tisular; poco se conoce acerca de este proceso y sus efectores moleculares en organismos unicelulares. En primer lugar, encontramos evidencias de apoptosis en la fase estacionaria de crecimiento de epimastigotes (actividad tipo caspasa 3, fragmentación de DNA, disminución de volumen celular y aumento del porcentaje de células TUNEL positivo). Por otra parte, incubando epimastigotes y trypomastigotes con sesquiterpeno lactonas naturales y sintéticas, se estudiaron algunas características morfológicas y bioquímicas que definen al proceso apoptótico. Así, tras la exposición de epimastigotes a dehidroleucodina, helenalina y mexicanina, se observó presencia de fosfatidilserina en la cara externa de la membrana plasmática, formación de cuerpos apoptóticos, picnosis nuclear y marcado aumento del índice apoptótico. La apoptosis en este parásito, podría corresponder a un mecanismo homeostático poblacional, desencadenado bajo condiciones medioambientales desfavorables. Además, drogas

de origen natural podrían ser efectivos inductores de apoptosis, abriendo así nuevas perspectivas terapéuticas para el control de esta parasitosis.
Financiado por RTPD Network (SIDA/SAREC) y Proyecto Anillo ACT 29.

GLUCOSA MODULA EN FORMA DIFERENCIAL LA LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE ALDOLASA A EN CÉLULAS DE MÚSCULO LISO Y ESQUELETICO. (Glucose modulates the subcellular localization of Aldolase A in both, smooth and skeletal muscle cells). Spichiger C, Slebe JC, Yáñez AJ. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Utilizando inmunofluorescencia y microscopia confocal, estudiamos la localización subcelular de la isoforma muscular de aldolasa (aldolasa A), en las líneas celulares: C2C12 (derivada de mioblasto de ratón) y A-10 (derivada de músculo liso de aorta de rata). Los resultados de inmunodetección muestran que aldolasa A se expresa constitutivamente en ambas líneas celulares. En células A-10, en presencia de glucosa, aldolasa A se localizó preferentemente en el citoplasma, mientras que en células C2C12 su localización fue citoplasmática y nuclear. Asimismo, determinamos que la distribución subcelular de aldolasa A depende de la concentración de glucosa y del tiempo de incubación. La presencia de glucosa estimula una localización citoplasmática de la enzima, mientras que su ausencia induce una localización nuclear. En células C2C12 la relación núcleo/citoplasma comienza a cambiar después de 1 h de incubación sin glucosa, y después de 6 h se obtiene la mayor translocación de aldolasa A al núcleo. En cambio, en células A-10 la máxima translocación nuclear de aldolasa A ocurre a las 48 h. Por otro lado, mediante inmunodetección se analizó la presencia de ésta isoenzima en fracciones de proteínas obtenidas de núcleos aislados de células C2C12 y A-10, confirmando su localización nuclear. Los resultados obtenidos y la capacidad de aldolasa A de unirse al DNA, permiten postular que aldolasa A es capaz de responder a señales metabólicas y translocar al núcleo, para participar en la regulación de la expresión génica de otras enzimas del metabolismo glucídico.

FONDECYT 1051122 y 1051057; MECESUP AUS-0006 y UCH 0115.

INACTIVACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA MIOSTATINA EN EL PEZ CEBRA MEDIADA POR EL PÉPTIDO ASOCIADO A LA LATENCIA (LAP). (Myostatin bioactivity inactivation by means of the latency associated peptide (LAP) in zebrafish). Delgado I, Navarro C, Fuentes E, Escobar S, Moltó N, Álvarez M, Vera MI, Molina A. Laboratorio de Genética Molecular y Biotecnología, Dpto. Cs. Biol. Universidad Andrés Bello; MIFAB.

Mutaciones que afectan la actividad biológica de la miostatina son responsables del fenotipo "musculatura doble" que se expresa en forma natural en algunos mamíferos. Miostatina regula negativamente el crecimiento muscular durante el desarrollo embrionario y también en el adulto. Este factor se sintetiza como un precursor que se procesa proteolíticamente originando un péptido activo que se mantiene unido al resto de la proteína (péptido asociado a la latencia LAP) por interacciones no covalentes, generándose un complejo latente incapaz de interactuar con su receptor. Este complejo se mantiene circulante hasta ser nuevamente escindido en el LAP por una proteasa sérica que libera el péptido activo, inhibiendo la proliferación de las células musculares. En este contexto, hemos clonado la secuencia codificante para la miostatina de pez cebra y hemos generado mutaciones puntuales que destruyen el sitio putativo de

reconocimiento para la proteasa sérica. Asimismo hemos preparado construcciones que contienen solamente el LAP. Ambas secuencias se utilizaron en experimentos de expresión transitoria en embriones de pez cebra para estudiar su efecto sobre las células musculares durante el desarrollo temprano de este pez. Estos experimentos se enmarcan en nuestro interés por explorar estrategias para bloquear la actividad atrofica de la miostatina con el objetivo de aumentar la productividad de la industria de cultivo de peces de importancia comercial.

UNAB DID15-03, DID23-05/R y DID04-02, FONDECYT 1050272

ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO EN LA ARGINASA TIPO I: MUTACIONES DE LIGANDOS PARA EL GRUPO CARBOXILO DE LA ARGININA (Substrate specificity of human arginase I: mutations of ligands to the arginine carboxyl group) Orellana MS, Alarcón R, Neira B, Carvajal N, Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción.

Además de catalizar la hidrólisis de compuestos estructuralmente relacionados y generar urea como uno de los productos, la arginasa y la agmatinasa comparten el requerimiento de Mn^{2+} para su actividad catalítica y la función de residuos altamente conservados. Sin embargo, son altamente específicas para sus respectivos sustratos (arginina y agmatina), ya que el sustrato de una no lo es para la otra. En base a las estructuras disponibles para estas enzimas, y el modelo estructural que hemos generado para la agmatinasa de *E. coli*, sugerimos que sus especificidades estarían dadas por la estructura de un loop que se encuentra en la entrada del respectivo sitio activo. Previamente, hemos analizado especies con mutaciones puntuales en ligandos del grupo carboxilo de la arginina en la arginasa de hígado humano, las cuales fueron capaces de hidrolizar la agmatina. Para evaluar el efecto combinado de la mutación de más de un residuo, hemos generado especies con mutaciones dobles y triples. Las especies N130D/S137C, N130D/N139D, S137C/N139D y N130D/S137C/N139D no presentaron cambios en los espectros de fluorescencia ni el mecanismo cinético, manteniendo una actividad específica para arginina de alrededor del 1% respecto a la enzima silvestre y un aumento de 5 veces en la K_m para arginina y 10 veces en la K_i para el producto ornitina. El cambio más importante fue la capacidad de las mutantes para hidrolizar a la agmatina (act. esp 10 % de la actividad arginasa; K_m alrededor de 1 mM). Los resultados obtenidos apoyan nuestra hipótesis en cuanto a los determinantes estructurales de la especificidad de la arginasa.
FONDECYT 1030038 y Beca CONICYT AT-24050206

PANELES

MODELAMIENTO MOLECULAR DE LA PORINA OMPD Y SU POSIBLE ROL EN EL EFLUJO DE SUSTANCIAS TÓXICAS DESDE LA CELULA. (Molecular modelling of OmpD porin and its possible role in the efflux of toxic compounds from the cell). Aguayo VD¹, Villarreal JM¹, González-Nilo D², Mora G³, Saavedra C¹. ¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad Andrés Bello. ²Centro de Bioinformática, Universidad de Talca. ³Laboratorio de Microbiología, Universidad Andrés Bello.

Las porinas son proteínas de membrana externa de bacterias involucradas en el ingreso de solutos hidrofílicos. Evidencias recientes indican que el gen ompD de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium estaría involucrado en la expulsión del tóxico metil viológico (MV), lo que ayudaría a explicar fenómenos como resistencia a drogas, adaptación al medio y otros.

Hemos construido un modelo computacional que permite desarrollar nuevas experiencias que ayuden a explicar el rol de OmpD en la expulsión MV de la célula. La utilización de herramientas bioinformáticas como dinámica molecular nos ha permitido desarrollar modelos en los que podemos calcular distintas interacciones de OmpD en el tiempo. Entre éstas destacan variaciones estructurales, conductancia y potenciales electrostáticos, entre otros. Estos estudios han servido para comprobar la mayor afinidad de OmpD por solutos catiónicos que por solutos aniónicos además de la generación de mutantes virtuales que permiten cerrar este poro. Finalmente, utilizando Steered Molecular Dynamics, hemos podido estudiar patrones de energía en el paso de sustancias biológicas por este canal y confirmar la capacidad y afinidad de OmpD para la expulsión de estos solutos.

FONDECYT 1050037, 1040254, 1020485

ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO DE LA ARGINASA HUMANA TIPO I: MODELAJE MOLECULAR DE LA MUTANTE N130D. (Substrate specificity of human Arginase I: Molecular modeling of the N130D mutant) Alarcón R, Martínez J, Orellana MS, García R, Neira B, Uribe E, Carvajal N. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La arginasa (EC 3.5.3.1.) y la agmatinasa (EC 3.5.3.11) catalizan reacciones de hidrólisis de sustratos guanidínicos, siendo urea uno de los productos. Además de la homología en el tipo de reacción catalizada por estas enzimas, ambas requieren de Mn²⁺ para su actividad catalítica, sus secuencias muestran un significativo grado de homología y, lo que es más importante, los residuos catalíticos y de unión del metal activador y del sustrato a la arginasa, se conservan en la secuencia de la agmatinasa. En el último tiempo, ha adquirido una especial relevancia el esclarecimiento de las bases moleculares de la especificidad de la interacción arginasa-arginina y el mecanismo de la reacción catalizada por la arginasa, así como las bases estructurales de la diferencia de especificidad que muestran la arginasa y la agmatinasa. Estudios previos demuestran que la menor extensión de un loop de la agmatinasa explicaría porque no puede hidrolizar la arginina. En base a esto, se diseñaron mutaciones sitios dirigida de arginasa dirigidas hacia este loop, demostrándose que N130D hidroliza tanto arginina como agmatina. Para demostrar la diferencia de especificidad por agmatina se ha empleado el uso de herramientas de Modelaje Molecular. Un modelo energéticamente y estereoquímicamente puede ser obtenido ya sea utilizando la estructura cristalina de arginasa de hígado de rata o de hígado humano (RMSD de 0.2 y 0.5 Å respectivamente). Se modelaron ambos sustratos, arginina y agmatina, en el sitio activo de la proteína nativa y mutante N130D. Los resultados obtenidos concuerdan con los cambios de la especificidad de sustrato de las especies analizadas. Financiado por proyecto FONDECYT N° 1030038.

EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DEL MODELO MOLECULAR DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE *Saccharomyces cerevisiae* MEDIANTE MUTACIÓN SITIO DIRIGIDA. (Experimental evaluation of the molecular model of *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase using site-directed mutagenesis). Arenas F¹, González-Nilo FD², Jabalquinto AM¹, Cardemil E¹. Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, y ²Centro de Bioinformática y Modelamiento Molecular, Universidad de Talca.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de *Saccharomyces cerevisiae* cataliza la descarboxilación de oxaloacetato y la transferencia de fosforilo desde el ATP, para dar como productos fosfoenolpiruvato, ADP y CO₂. Estudios cinéticos y termodinámicos muestran que esta enzima tiene mayor preferencia por los nucleótidos de adenina que por los de guanina. A la fecha no ha sido posible cristalizar esta enzima, por lo cual se construyó un modelo por homología, tomando como templado la PEPCK de *Escherichia coli* que tiene un 48% de identidad con la enzima de *S. cerevisiae*. Modelos del complejo PEPCK-ADP predicen la estabilización de la adenina por medio de un puente de hidrogeno entre el N6 de la base y el hidroxilo de la treonina 463. Una interacción similar no se da para el caso de la guanina en el complejo PEPCK-GDP. Mediante mutación sitio dirigida se evaluaron experimentalmente estas predicciones. Se encontró que la PEPCK de *S. cerevisiae* conteniendo la mutación Tre463Ala, presenta una pérdida de 0,76 kcal/mol en la afinidad por el ADP en comparación con la enzima salvaje. Esta pérdida no se produce para el caso del GDP. Estudios cinéticos mostraron un aumento en la Km para ADP en la enzima mutada. Los datos experimentales obtenidos para la PEPCK Tre463Ala están de acuerdo con las predicciones de la simulación molecular. Financiado por FONDECYT 1030760 y DICYT 0441JL.

TRANSFORMACIÓN DE *Botrytis cinerea* MEDIADA POR *Agrobacterium*: INTEGRACIÓN DE UN cDNA MICOVIRAL HETERÓLOGO AL GENOMA DEL HONGO Y DETERMINACIÓN DEL GRADO DE VIRULENCIA DE LAS CEPAS TRANSFORMADAS. (*Agrobacterium*-mediated transformation of *B. cinerea*: heterologous integration of mycoviral cDNA to the fungal genome and virulence determination of the transformed strains). Armijo G, Cottet L, Castillo A. Laboratorio de Virología de Hongos, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La atenuación de la virulencia de hongos fitopatógenos (hipovirulencia) mediada por micovirus de dsRNA podría ser una herramienta útil para disminuir su efecto necrotrofico en las plantas.

La obtención del cDNA correspondiente al genoma completo del hipovirus CHV1-EP713, que infecta naturalmente a *Cryphonectria parasitica*, ha permitido la transformación y posterior establecimiento de la infección de hongos que presentan distinto grado de relación filogenética con *C. parasitica*, obteniéndose fenotipos hipovirulentos atribuidos a la presencia de los dsRNAs micovirales.

Para transformar cepas silvestres virulentas del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, los plásmidos pXH9 y p18, que poseen el genoma completo del micovirus CHV1-EP713 y los genes vir necesarios para la transferencia e integración mediada por *Agrobacterium*, respectivamente, fueron linealizados con la enzima de restricción SgfI y posteriormente tratados con DNA ligasa, obteniéndose el plásmido recombinante pXH9-18. Esta construcción fue introducida en la cepa LBA1126 de *Agrobacterium tumefaciens*, con lo cual la bacteria se encuentra capacitada para integrar el cDNA

micoviral heterólogo en el genoma fúngico, cuando es expuesta a un medio de inducción con acetosiringona. De esta manera es posible obtener cepas de *B. cinerea* que expresen el genoma hipoviral, las cuales pueden ser caracterizadas purificando los dsRNAs virales mediante cromatografía en celulosa CF11 y a través de bioensayos que verifiquen la disminución en su virulencia.
Financiado por DICYT-USACH.

SEPARACIÓN Y ANÁLISIS DE TETRÁMEROS HÍBRIDOS DE FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA. (Isolation and analysis of hybrid tetramers of fructose-1,6-bisphosphatase). Asenjo JL, Yáñez AJ, Maureira MA, Ludwig HC, Slebe JC. Laboratorio de Enzimología Molecular. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La enzima gluconeogénica fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa), es un homo-tetrámero, el cual no contiene residuos de triptófano. Esta enzima cataliza la hidrólisis de fructosa-1,6-bisfosfato produciendo fructosa-6-fosfato y fosfato inorgánico. La actividad catalítica es inhibida por AMP y fructosa-2,6-bisfosfato en forma sinérgica. El sustrato a concentraciones superiores de 50 μ M también inhibe a la enzima, mediante un mecanismo poco conocido. Para estudiar el efecto inhibitorio del sustrato y el AMP, hemos generado tetrámeros híbridos de la enzima, con subunidades de la enzima tipo silvestre y de una mutante que contiene un residuo de triptófano en posición 219, el cual permite sensar la unión del sustrato y de AMP a la enzima. Debido al intercambio de subunidades se obtienen 5 formas de tetrámero conteniendo las subunidades en razón: 4:0, 3:1, 2:2 1:3 y 0:4, los cuales fueron separados por una cromatografía de intercambio aniónico en FPLC y visualizados en PAGE no denaturante. Los resultados muestran que los híbridos poseen propiedades cinéticas similares a la enzima silvestre y la mutante F219W. La velocidad de intercambio de subunidades disminuye en presencia de sustrato o AMP. Por registro de la fluorescencia intrínseca se determinaron las constantes de unión del sustrato y AMP a los híbridos. FONDECYT 1051122, MECESUP UCH-0115, DID-UACH S-2000574.

CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL GEN Vp AAT1 AISLADO DE PAPAYA CHILENA (Functional characterisation of Vp AAT1 gene isolated from Chilean papaya). Balbontín C, Gaete-Eastman C, Moya M, Vergara M, Herrera R, Moya-León MA. Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular Vegetal, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca. Centro de Investigación en Biotecnología Silvoagrícola.

El aroma emitido por los frutos es un importante atributo de calidad que incide sobre la aceptación por parte del consumidor. El aroma es un carácter complejo, determinado por un conjunto de compuestos volátiles de bajo peso molecular, que son percibidos por el epitelio olfativo, creando sensaciones olfativas y gustativas. El aroma de los frutos es impartido principalmente por ésteres, cuya producción se incrementa durante el transcurso de la maduración de ellos. Los ésteres son producidos mediante reacciones de esterificación entre alcoholes y acil CoAs, catalizadas por la enzima Alcohol Acil Transferasa (AAT).

La papaya que se cultiva en Chile (*Vasconcellea pubescens*) desarrolla durante su maduración un aroma fuerte, agradable y característico. Los volátiles de mayor impacto sensorial identificados en papaya chilena corresponden a los ésteres lineales butanoato de etilo y hexanoato de etilo. Con el objeto de estudiar la síntesis de compuestos volátiles en papaya, se aisló desde cDNA de frutos una secuencia de 1383 pb (Vp AAT1) que presenta una alta homología con genes de diferentes AATs aisladas desde especies frutales y florales. El

análisis de secuencia revela la presencia de motivos altamente conservados necesarios para la funcionalidad de esta enzima. Recientemente, la secuencia ha sido expresada en levaduras, obteniendo una cepa transformada capaz de utilizar diversos alcoholes como sustratos para la síntesis de los ésteres correspondientes.
Financiamiento: Proy.Fundación Andes C-13855/12 y Mecesus TAL105.

INTERACCIONES MOLECULARES ENTRE EL TRANSPORTADOR GLUT1 Y SUS INHIBIDORES. (Molecular interactions between the GLUT1 transporter and its inhibitors). Bulnes P, Gonzalez-Nilo D*, Reyes AM. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia y *Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca.

Glut1 es un transportador facilitativo de hexosas cuya actividad es inhibida por ciertos compuestos naturales y sintéticos. Se ha estudiado el modo de interacción de algunos de estos compuestos con el transportador, así como la significancia de ciertos residuos conservados mediante ensayos cinéticos y funcionales. En este trabajo se intenta emplear tecnologías computacionales para refinar un modelo teórico para la estructura tridimensional del transportador Glut1 humano (PDB: 1SUK) descrito recientemente (Salas-Burgos *et al.* *Biophys. J.* 87, 2990-2999, 2004). El modelo refinado se insertó en una membrana lipídica y se relajó por una simulación de dinámica molecular de 10 ns. Este modelo se empleó para el análisis de las interacciones mediante reconocimiento molecular. Los parámetros de campo de fuerza de CHARMM22 e ICM-Pro 3.4 se usaron para estas simulaciones. Este abordaje permitió identificar posibles sitios de unión para el sustrato y ciertos inhibidores en las superficies externa e interna, en relación a la membrana plasmática, del transportador. Estos análisis se correlacionaron con datos cinéticos que indican funcionalmente la orientación, exofacial o endofacial, de diversos inhibidores de GLUT1. Los resultados sugieren que existen sitios de unión exo- y endofaciales en el transportador e identifican residuos de aminoácidos que serían posibles determinantes de unión
Financiado por Fondecyt 1020908.

EXPRESIÓN DEL cDNA QUE CODIFICA PARA LA RNA POLIMERASA DEPENDIENTE DE RNA DEL MICOVIRUS BcV1 QUE INFECTA A *Botrytis cinerea* CCg378. (Expression of the cDNA that encode for RNA-dependent RNA polymerase from BcV1 mycovirus that infect to *Botrytis cinerea* CCg378). Bustamante P, Cottet L, Castillo A. Laboratorio de Virología de Hongos, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

Los micovirus corresponden a elementos intracelulares que se han caracterizado en una amplia variedad de hongos y de acuerdo a la organización de su genoma se han clasificado en tres familias: *Totiviridae*, *Partitiviridae* e *Hipoviridae*. Dentro de la amplia variedad de hospedadores a los que infectan este tipo de virus, se encuentra *Botrytis cinerea*, hongo fitopatógeno que infecta frutos, hortalizas y plantas ornamentales.

En *B. cinerea* CCg378 se detectó la presencia de un micovirus icosaédrico de 32 nm de diámetro, denominado BcV1, el cual posee un genoma de dsRNA segmentado, compuesto por dos moléculas de idéntica migración electroforética, pero de distinta secuencia nucleotídica. El ORF del dsRNA-1 codificaría para un polipéptido de 564 aminoácidos que presenta similitud con una replicasa viral, mientras que el dsRNA-2 codificaría para el polipéptido de la cápside. De acuerdo a estas características BcV1 corresponde al primer partitivirus de *B. cinerea* caracterizado hasta la fecha.

El ORF contenido dentro del cDNA-1 generado a partir del dsRNA-1 de este micovirus, fue amplificado por PCR y el producto de amplificación se sometió a digestiones con enzimas de restricción, para generar un inserto capaz de ser clonado en vectores de expresión. Para expresar la proteína en *E. coli* se utilizó el vector de expresión pET-21d(+) y con el vector recombinante fue posible transformar bacterias BL21 (DE3), generando la expresión de una proteína recombinante. La proteína también será expresada en un sistema eucarionte (*S. cerevisiae*), utilizando para ello el vector de expresión pGREG586.

El producto de expresión en ambos sistemas será analizado por SDS-PAGE y se caracterizará la actividad polimerasa de la proteína recombinante.
Financiado por DICYT-USACH

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES ASOCIADA AL DESARROLLO DE BAYAS PARTENOCÁRPICAS EN *Vitis vinifera* cv Carmenere (Differential gene expression associated to development of parthenocarpic fruits in *Vitis vinifera* cv. Carmenere). Cabrera N, Alva O, González-Villanueva E. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca

Durante el desarrollo frutal de *Vitis vinifera* cv Carmenere se manifiesta el fenómeno denominado corrimiento, caracterizado por la aparición de bayas partenocárpicas no semilladas, de pequeño tamaño y que no alcanzan la madurez. Este fenómeno afecta directamente la producción de frutos y la calidad lograda por el vino. En vides, el desarrollo de frutos partenocárpicos ha sido asociado a una polinización defectuosa, originada por un aborto en el desarrollo del tubo polínico en el estigma floral. Sin embargo, los eventos moleculares asociados a este proceso son aún desconocidos y su esclarecimiento contribuirá al diseño de estrategias que permitan mejorar el desarrollo frutal de este cultivo.

Las poliaminas (PAs) han sido asociadas a la regulación de eventos tempranos del desarrollo frutal en la vid, relacionando el fenómeno partenocárpico con alteraciones en el perfil de PAs respecto de aquel observado en bayas normales. Con el fin de correlacionar tales alteraciones en el contenido de estos metabolitos con la actividad transcripcional de genes que codifican para enzimas del metabolismo de PAs, se ha analizado el perfil de expresión de tales genes en bayas partenocárpicas y bayas normales. El análisis transcriptómico comparativo fue realizado mediante hibridación de macroarreglos conteniendo una colección de 4800 ESTs de desarrollo frutal de vides. Los resultados obtenidos evidencian una modificación tanto en los niveles de expresión de genes involucrados en el metabolismo de PAs como en genes asociados a vías de transducción de señales hormonales.
Financiamiento: Universidad de Talca. (Beca doctoral N. Cabrera) y Proyecto Genoma Vid Chile G02P1002.

FUNCIÓN DE RESIDUOS CONSERVADOS EN EL SITIO ACTIVO DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli* (Role of conserved active site residues of *E. coli* phosphofructokinase-2). Caniuguir A, Cabrera R, Guixé V. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las enzimas de la familia de la riboquinasa catalizan la fosforilación de un hidroxilo secundario en azúcares fosforilados y no fosforilados. El análisis de los patrones de secuencia conservados entre miembros de la familia permite distinguir motivos comunes a todos los miembros y otros conservados a nivel de grupos de enzimas con la misma especificidad. La función de residuos en ambos tipos de motivos, presentes en el sitio activo de la fosfofructoquinasa-2 (Pfk-2) de *E. coli*, miembro de la familia de la riboquinasa, se

evaluó por mutagénesis sitio-específica. La mutación D256N del motivo GAGD, completamente conservado, se realizó bajo la hipótesis de que éste corresponde a la base catalítica general que desprotona el hidroxilo que es fosforilado en el sustrato. El reemplazo R90Q del motivo TRXXI/L/V, conservado a nivel de aquellos miembros de la familia que son específicos para azúcares fosforilados, se efectuó para averiguar si este residuo interactúa electrostáticamente con el fosfato del sustrato azúcar. La mutante D256N presenta una disminución de 15.000 veces en la *k_{cat}* respecto de la enzima silvestre y un modesto incremento en la *K_m* para fructosa-6-P. Por el contrario, en la mutante R90Q la *K_m* para fructosa-6-P muestra un aumento de 200 veces junto con un 26% de disminución en la *k_{cat}* respecto de la enzima silvestre. Otros parámetros cinéticos y estructurales no se afectan de manera significativa. En su conjunto, estos resultados permiten proponer un modelo para el mecanismo catalítico de la fosforilación de fructosa-6-P en Pfk-2. FONDECYT 1040892

ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN DE FACTORES NUCLEARES A SITIOS DE CONSENSO EN LA REGIÓN CIS-REGULATORIA DE LOS GENES DUPLICADOS DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN PIT1 DE CARPA (*Cyprinus carpio*). (Analyses of interaction of nuclear factors with consensus sites in cis-regulatory regions of duplicated genes of the transcription factor Pit1 from carp, *Cyprinus carpio*) Castro L, Vera T, Muñoz, A, Grothusen H, Salazar M, Romero A, Muller M*, Figueroa J, Kausel G. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia; *LBMGG, Université de Liege, Belgique.

Los cambios modulares de elementos cis-regulatorios en los genes duplicados de Pit-1 reflejan la dinámica de secuencias regulatorias en *Cyprinus carpio*, cuyo genoma se duplicó unos 15 millones de años atrás. Análisis in vitro revelaron la interacción específica de factores nucleares a secuencias de consenso conservadas en los genes I y II y sitios exclusivos en el gen-I, que podrían estar implicados en la regulación de la expresión diferencial en carpas aclimatizadas a invierno, las que muestran un mayor nivel de transcritos del gen-I. Actualmente estamos preparando anticuerpos contra un oligopéptido diseñado para estudiar Pit1, el factor de transcripción sitio específico de la glándula pituitaria, que tiene múltiples genes blancos, entre otros prolactina y el receptor del péptido liberador de prolactina recientemente detectado en la carpa. La obtención de anticuerpos permitirá estudios de la red de interacciones implicadas en la regulación de la expresión génica en el sistema hipotálamo-hipofisiario en teleosteos y la organización de la respuesta a cambios del medio ambiente causados naturalmente o por impacto de actividades humanas.
Financiado por Proyecto Did-UACH-2004-57, Colaboración Internacional AGCI/CGRI-10/01068-3.4 y Proyecto Fondecyt 1010727.

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DEL GEN DE LA MIOSTATINA DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL LENGUADO CHILENO (*Paralichthys adspersus*) (Expression analysis of the Myostatin gene during the embryonic development of the Chilean Flounder (*Paralichthys adspersus*)). Escobar S, Fuentes E, Delgado I, Navarro C, Moltó N, Alvarez M, Vera MI, Molina A. Laboratorio de Genética Molecular y Biotecnología, Dpto. Cs. Biol. Universidad Andrés Bello; MIFAB.

El fenotipo "musculatura doble" que se expresa en forma natural en algunos mamíferos es consecuencia de mutaciones que afectan la actividad biológica de la miostatina. La miostatina es miembro de la superfamilia de factores de transformación y crecimiento β (TGF β) que engloba un amplio número de factores de crecimiento y diferenciación implicados

en el desarrollo y la homeostasis tisular. La miostatina regula negativamente el crecimiento de las fibras musculares durante el desarrollo embrionario y también en el adulto.

Se ha reconocido la utilidad de este gen para el mejoramiento genético de especies de importancia comercial. En consecuencia, la actividad atrófica de la miostatina observada en mamíferos puede ser igualmente útil en el cultivo intensivo de peces. Así, hemos focalizado nuestro interés en el lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*), candidato potencial para la diversificación de la acuicultura en Chile.

Hemos aislado el gen de la miostatina de lenguado chileno, a partir de la cual hemos sintetizado ribosondas para estudiar la expresión de miostatina durante el desarrollo embrionario por *hibridación in situ whole mount*. Asimismo hemos estudiado la expresión del transcrito de miostatina RT-PCR. Estos resultados forman parte de una primera etapa en la búsqueda de estrategias destinadas a bloquear la actividad de miostatina de este pez para aumentar la eficacia de su cultivo

UNAB DID15-03, DID23-05/R y DID04-02, FONDECYT 1050272

PAPEL DE FENILALANINA 416 EN LA AFINIDAD DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA DE LEVADURA POR Mn(II), FOSFOENOLPIRUVATO Y ADP. (Role of phenylalanine 416 in the affinity of yeast phosphoenolpyruvate carboxylase for Mn(II), phosphoenolpyruvate, and ADP). Espinoza R, Villarreal JM, Rivas JA, Cardemil E. Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de levadura cataliza la descarboxilación y fosforilación de oxaloacetato en presencia de ATP y Mn(II) para dar fosfoenolpiruvato (PEP), ADP y CO₂. Si bien no tenemos la estructura tridimensional de esta enzima, datos cristalográficos de varias PEPCKs muestran que Mn(II) se une a través de His233, Asp271 y Lis213, según la numeración de la enzima de levadura. La unión a Lis213 sugiere un bajo pKa para este residuo, y la existencia de un microentorno que lo permita. Decidimos obtener evidencia cinética del pKa de Lis213, y evaluar el papel de Fen416, un residuo próximo a Lis213, como posible responsable, al menos en parte, del supuesto bajo pKa de Lis213. El análisis del efecto del pH en la afinidad (K_m) de la enzima por Mn(II) indicó que ésta depende de la desprotonación de un grupo con pKa de 7,1, valor compatible con el bajo pKa esperado para Lis213. Luego, se comparó la afinidad por el metal de la enzima silvestre y de un mutante en que se reemplazó Fen416 por Tir. La enzima resultante, que ahora tiene un hidroxilo adicional en la zona de unión del metal, presentó un aumento en la K_m para Mn(II) de tres veces. Este resultado es compatible con un aumento en el pKa de Lis213, lo que es de esperar dado el aumento en la polaridad de su microentorno por la presencia ahora de un hidroxilo en el anillo aromático de la posición 416. La mutación causó a la vez una disminución de 1,3 kcal/mol en la afinidad de la enzima por PEP, lo que puede ser explicado por un efecto de la mutación mediado por Arg70, un residuo esencial para la unión de este sustrato.

Financiado por FONDECYT 1030760.

ESTUDIOS TEORICO EXPERIMENTALES DE SUBCOMPLEJOS DE FICOBILISOMAS DE GRACILARIA CHILENSIS (Theoretical and experimental studies of subcomplexes of phycobilisomes from *Gracilaria chilensis*) Figueroa M, Martínez-Oyanedel J, Bunster M. Grupo de Biología Estructural, Lab. Biofísica Molecular, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Los ficobilisomas (PBS), son complejos multiproteicos encargados de captar y conducir energía luminosa hasta los centros de reacción fotosintéticos. La eficiente conducción de luz a través de los ficobilisomas es absolutamente dependiente de la estructura de los componentes de este complejo macromolecular y de su organización supra estructural.

En este trabajo se utilizaron dos enfoques para analizar la forma en que las ficobiliproteínas constituyentes del PBS interaccionan: el aislamiento de subcomplejos a partir de ficobilisomas obtenidos por ultracentrifugación y su caracterización molecular por cromatografía de filtración molecular y espectroscopía de fluorescencia; por otra parte dado a que se conoce la estructura tridimensional de los componentes ficobiliproteicos de varillas: ficoeritrina y ficocianina, se realizaron estudios de interacción entre ficobiliproteínas utilizando procedimientos de docking molecular.

El análisis y correlación de ambos resultados permiten presentar un modelo de varilla de PBS donde se bosqueja una vía para la conducción de la luz.

Proyecto DIUC: 205.037.002-1.0

EXPRESIÓN GÉNICA DE LA MIOSTATINA DURANTE LAS DISTINTAS ETAPAS DE CULTIVO DEL LENGUADO CHILENO (*Paralichthys adspersus*) (Myostatin Differential gene expression during the different stages of the Chilean flounder culture (*Paralichthys adspersus*)). Fuentes E, Delgado I, Moltó N, Escobar S, Navarro C, Álvarez M, Vera MI, Molina A. Laboratorio de Genética Molecular y Biotecnología, Dpto. Cs. Biol. Universidad Andrés Bello; MIFAB.

La miostatina o factor de diferenciación y crecimiento 8 (GDF-8) es un nuevo miembro de la superfamilia de factores de transformación y crecimiento β (TGFβ). Aunque los primeros reportes describían la expresión de miostatina exclusivamente en músculo esquelético, publicaciones más recientes han mostrado la expresión de miostatina (mRNA y proteína) en otros tejidos. En peces, aunque con algunas diferencias entre especies, el transcrito de miostatina también se ha detectado en cerebro, ojo, intestino, agallas, hígado, gónadas y riñón.

Sobre esta base se evaluó por RT-PCR la expresión temporal y espacial del gen de la miostatina del lenguado chileno en peces juveniles y adultos. Se observaron variaciones notables de los niveles de expresión en los diferentes tejidos estudiados, encontrándose mayores expresiones en el músculo rojo, músculo blanco, y cerebro, respectivamente. Asimismo se observó un aumento de la expresión en peces de seis años de edad comparados con ejemplares juveniles, correlacionada con la disminución de las curvas de crecimiento. Estos resultados representan una primera etapa para evaluar la expresión diferencial de la miostatina como posible marcador molecular de crecimiento. Esta herramienta podrá ser utilizada para iniciar protocolos de mejoramiento genético y potenciar así el cultivo comercial de *Paralichthys adspersus*.

UNAB DID15-03, DID23-05/R y DID04-02, FONDECYT 1050272

CARACTERIZACIÓN DE ARGINASA DE *Pleurotus ostreatus* (Characterization of arginase from *Pleurotus ostreatus*). García R, Uribe E, Orellana M, Alarcón R, Neira B, Carvajal N. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La arginasa (EC 3.5.3.1) cataliza la hidrólisis de la arginina en ornitina y urea. Sobre esta enzima, clave en el metabolismo de la arginina, aminoácido esencial para el crecimiento y replicación celular de los seres vivos, no existe información en especies del hongo *Pleurotus*. El interés por

estudiar este hongo radica en la posibilidad de importantes aplicaciones biotecnológicas, como la biotransformación de residuos de la agricultura en alimentos para animales y en otros productos alimenticios, así como su uso para la degradación de contaminantes orgánicos y xenobióticos. En este trabajo, sólo detectamos actividad arginasa en *P. ostreatus* en su etapa de mayor desarrollo. La purificación de esta enzima y su posterior caracterización mostró una actividad específica de 1,8 μ moles de urea/mg proteína/min y una *K_m* de 4,7 mM para el sustrato, arginina. La enzima es activada a concentraciones bajas de Mn^{2+} y Ni^{2+} e inactivada completamente por Zn^{2+} , lo que concuerda con resultados obtenidos para arginasas de otras especies. Se realizaron estudios de inhibición por producto y análogos del sustrato, que permiten concluir que la reacción se encuentra fuertemente desplazada hacia la formación de los productos. Mediante el análisis de secuencias y amplificación, se logró obtener un fragmento de 650 pares de bases a partir de RNA total de carpóforos de *P. ostreatus*, que codifica para una posible arginasa. La enzima fue expresada en *E. coli*, y caracterizada estructural y cinéticamente.
Programa de becas Lewis A. Tyler, LASPAU-OEA.

POLIMORFISMOS DEL GEN DE NEFRINA EN DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y 2. (Genetic polymorphisms of nephrin in Diabetes Mellitus type 1 and 2). González R¹, Rojas A¹, Tirado A¹, Alvo M², Barquin I³, Seelenfreund D¹, Lobos S¹, Durruy P⁴.
¹Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. de Cs. Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, ²Sección de Nefrología, Hosp. Clínico U. de Chile, ³Centro Cardiovascular, Hosp. Clínico Universidad de Chile, ⁴Unidad de Diabetes, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

El 30 a 40% de los pacientes diabéticos presenta complicaciones crónicas de nefropatía diabética (ND), que puede llevar a insuficiencia renal terminal. La ND depende de antecedentes genéticos, el control metabólico y la presión arterial. La nefrina es una proteína esencial de la membrana de filtración glomerular y un buen indicador de compromiso renal en enfermedades genéticas y adquiridas.

El objetivo de este trabajo fue estudiar algunos polimorfismos de gen de nefrina para determinar si éstos se asocian a la presencia de ND en pacientes diabéticos chilenos tipo 1 y 2. Se estudió la presencia de polimorfismos en 2 regiones y en el promotor de este gen en pacientes diabéticos tipo 1 y 2 con y sin nefropatía, nefróticas y coronarios no diabéticos y controles sanos. Mediante SSCP-PCR se encontró un polimorfismo asociado a diabetes tipo 1. Al corroborar mediante secuenciación las variantes detectadas, se vio que corresponden a dos polimorfismos descritos: un SNP intrónico (SNPrs466452) que determina la aparición de un sitio ESE (exon splicing enhancer), y en algunos casos un cambio no sinónimo (SNPrs4806213). El polimorfismo del promotor y el polimorfismo SNPrs3814995 no presentaron diferencias significativas entre los grupos.
Proyectos FONIS SA04i2095 y DI MULT 04/21-2.

ALCOHOLISMO Y HERENCIA MATERNA: DIFERENCIAS EN GENES DEL COMPLEJO I MITOCONDRIAL ENTRE RATAS ABSTEMIAS (UChA) Y BEBEDORAS DE ALCOHOL (UChB) (Alcoholism and maternal inheritance: differences in genes of mitochondrial complex I between alcohol nondrinker (UChA) and drinker (UChB) rats) González-Martínez G¹, Lobos-González L¹, Sapag A¹, Quintanilla ME², Tampier L², Israel Y¹.
¹Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; ²Laboratorio de Farmacogenética del Alcoholismo, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El complejo I mitocondrial, que oxida NADH mitocondrial a NAD⁺, tiene una capacidad de oxidación del NADH menor en ratas no bebedoras de alcohol (UChA) que en ratas bebedoras (UChB). La menor disponibilidad de NAD⁺ en ratas UChA contribuye así a su menor consumo de alcohol dado que la deshidrogenasa alcohólica y, principalmente la deshidrogenasa aldehídica, utilizan NAD⁺ mitocondrial como cofactor para metabolizar el etanol.

En este trabajo se buscaron diferencias entre los linajes de ratas UChA (no bebedor de alcohol) y UChB (bebedor) en el gen nuclear *Ndufa1* y en los genes mitocondriales *Nd2* y *Nd4*, todos codificantes de subunidades del complejo I. Los genes se amplificaron mediante PCR de DNA genómico de cinco ratas UChA y cinco ratas UChB. La secuencia nucleotídica de los tres exones del gen nuclear *Ndufa1* resultó ser idéntica en ambos linajes. En cambio, la secuenciación parcial de los amplicones de *Nd2* y *Nd4* reveló diferencias nucleotídicas entre las ratas UChA y UChB. Las variaciones peptídicas deducidas corresponden al aminoácido 150 en la ND2 (Ser en UChA; Asn en UChB) y al aminoácido 23 en la ND4 (Thr en UChA; Ile en UChB).

Las diferencias encontradas, tanto nucleotídicas como peptídicas, podrían explicar, en conjunto o individualmente, las diferencias entre ratas UChA y UChB en la capacidad del complejo I de oxidar el NADH, función que condiciona el consumo de etanol.

Financiamiento: FONDECYT 1050480

ANÁLISIS DE LA PROTEOMICA NUCLEAR DEL PEZ *Cyprinus carpio* DURANTE EL PROCESO DE ACLIMATIZACIÓN ESTACIONAL. (Nuclear proteomic study of *Cyprinus carpio* fish during seasonal acclimatization process) Guajardo L, Reyes M, Molina A, *Bouvet P, Vera M, Álvarez M. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello and MIFAB, Santiago, CHILE, *Ecole Normale Supérieure, Lyon, France.

La adaptación estacional de los ectotermos euritermales es un proceso que demanda la generación de mecanismos moleculares que aseguren la homeostasis del individuo frente a las variaciones naturales de su hábitat. En particular, nuestro laboratorio ha demostrado que el pez *C. carpio* genera respuestas compensatorias a los estímulos ambientales, las cuales son transducidas a señales moleculares que conllevan además una reprogramación de la expresión génica. En orden a ampliar nuestro conocimiento respecto a los mecanismos moleculares implicados en el proceso de reprogramación génica durante el proceso de adaptación estacional, hemos realizado un estudio proteómico centrado en el patrón de expresión de proteínas nucleares en hepatocitos de carpas aclimatizadas. Nuestros resultados permitieron establecer que existe alrededor de un 20% de proteínas nucleares que exhiben una expresión diferencial concomitante al proceso de adaptación estacional. A partir de esta evidencia, hemos seleccionado grupos de proteínas representativas de cada condición adaptativa para su posterior identificación en ensayos de espectrometría de masa. Igualmente, hemos evaluado la expresión estacional de algunas proteínas nucleares asociadas a etapas relevantes de la regulación del proceso de biogénesis ribosomal (nucleolina, B23 y macroH2A). Los antecedentes obtenidos confirman que la expresión de dichos factores proteicos se encuentran bajo la regulación que emerge del proceso de adaptación estacional.
FONDECYT 1040197, DI/UNAB 45-04.

TRANSFECCIÓN DE *Botrytis cinerea* UTILIZANDO TRANSCRITOS SINTÉTICOS HETERÓLOGOS DEL HIPOVIRUS CHV1-EP713 (Transfection of *Botrytis cinerea* using heterologous synthetic transcripts from CHV1-EP713 hypovirus). Jeldres O, Cottet L, Castillo A. Laboratorio de Virología de Hongos, Departamento de Biología, Facultad Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Los micovirus de dsRNA del género hipovirus están asociados a la atenuación del grado de virulencia del hongo hospedador, proporcionando una base para el control biológico de enfermedades fúngicas mediada por virus. Los hipovirus, como CHV1-EP713 aislado del hongo *Cryphonectria parasitica* no poseen una ruta extracelular de infección, por lo que su medio de transmisión es mediante anastomosis de hifas compatibles, mitosis y meiosis. Evidencia experimental reveló que es posible transfectar y transformar hongos filogenéticamente relacionados con *C. parasitica*, causando un severo cambio en el fenotipo del hongo infectado por el hipovirus. Estos resultados demuestran que es posible ampliar el rango de hospederos para los hipovirus disminuyendo la virulencia del hongo.

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno que infecta un amplio rango de hospedadores provocando la enfermedad conocida como pudrición gris. Usando transcritos sintéticos heterólogos obtenidos a partir del cDNA del hipovirus CHV1-EP713 se transfectaron esferoplastos de *B. cinerea* logrando una infección estable y permanente. La presencia del micovirus se determinó purificando el dsRNA, correspondiente a su genoma, por cromatografía en celulosa CF11. El grado de virulencia de la cepa transfectada se determinó midiendo la actividad de la enzima lacasa, mediante la oxidación de 2,6 dimetoxifenol y ácido gálico. También se midió la tasa de esporulación y se realizaron bioensayos de virulencia en hojas de plantas de poroto.

Financiado por DICYT-USACH.

UN tRNA^{Glu} QUE DESACOPLA LA BIOSÍNTESIS DE PROTEÍNAS DE LA DE TETRAPIRROLES. (A tRNA^{Glu} that uncouples protein and tetrapyrrole biosynthesis). Katz A, Levicán G, Valenzuela P, Soll D#, Orellana O. #Dept. Molecular Biophysics and Biochemistry, Yale University. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El glutamyl-tRNA (Glu-tRNA) se une al factor de elongación Tu para la biosíntesis de proteínas o se reduce por la glutamyl-tRNA reductasa en la primera etapa de la biosíntesis de tetrapirroles (hemo) en la mayoría de las bacterias, arqueas y organelos.

En *Acidithiobacillus ferrooxidans*, una bacteria acidófila que participa en la biolixiviación de minerales, se produce una gran cantidad de hemo. En este microorganismo existen tres tRNA^{Glu}, todos sustratos de la GluRS1, una de las dos GluRS existentes en esta bacteria. El Glu-tRNA^{Glu3}, que se une al factor de elongación Tu y por lo tanto participa en la biosíntesis de proteínas, no es sustrato de la GluTR. Por lo tanto, la aminoacilación del tRNA^{Glu3} puede contribuir a asegurar la biosíntesis de proteínas en condiciones de una alta demanda de hemo.

Financiado por Fondecyt (1020087) y Universidad de Chile.

PREDICCIONES SOBRE EL POSIBLE PAPEL DE LA GLUTAMIL-tRNA SINTETASA EN EL METABOLISMO DE GLUTAMINA. (Predictions on the possible role of GluRS in the metabolism of Glutamine). Kruger E, Toledo V, Inostroza C, Holmes D#, Orellana O. #Universidad Andrés Bello. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

La bacteria acidófila *Acidithiobacillus ferrooxidans*, puede proliferar utilizando amonio o N₂ atmosférico. El amonio se fija en la glutamina por la glutamina sintetasa (GS) y el N₂ se incorpora por la nitrogenasa codificada por los genes *nif*. Se sabe que la fijación de amonio en bacterias se regula en gran medida por la proteína PII, que modula la actividad de la GS y la expresión de los genes *nif*. En el genoma de *A. ferrooxidans* existen cuatro ortólogos de PII, uno de ellos formando parte de una unidad transcripcional junto con la GluRS1 y otros genes relacionados con el metabolismo de glutamina y amonio.

Cada vez es más evidente que las aminoacil-tRNA sintetasas cumplen funciones adicionales (o alternativas) a la biosíntesis de proteínas. En *A. ferrooxidans* existen varios tRNA^{Gln} y dos GluRS no discriminantes. Debido a que en este microorganismo el glutaminil-tRNA se forma por una vía indirecta, con la participación de una GluRS no discriminante y una amidotransferasa dependiente de tRNA, se puede postular que ésta es una vía alternativa a la GS para la biosíntesis de glutamina. En este trabajo, mediante análisis bioinformático, estudios de expresión de los mRNA correspondientes por RT-PCR y por complementación de mutantes de *E. coli* deficientes en GS se intenta establecer la posible participación de la GluRS en la fijación de amonio y el metabolismo de glutamina.

Financiado por Fondecyt (1020087) y Universidad de Chile.

IMPORTANCIA DEL RESIDUO FENILALANINA 16 EN LA INTERACCIÓN DE LA FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA DE RIÑÓN DE CERDO CON AMP. (Importance of the phenylalanine 16 residue in the interaction of pig kidney fructosa-1,6-bisphosphatase with AMP). Maureira M, Ludwig H, Asenjo J, Yáñez AJ, Slebe JC. Laboratorio de Enzimología Molecular, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) de riñón de cerdo es una enzima clave en la regulación de la vía gluconeogénica. Esta enzima cataliza la hidrólisis de la fructosa-1,6-bisfosfato (Fru-1,6-P₂) a fructosa-6-fosfato (Fru-6-P) más fosfato inorgánico en presencia de iones metálicos divalentes (Mg²⁺ o Mn²⁺). La enzima es un homotetramero cuya actividad catalítica es regulada en condiciones fisiológicas por el inhibidor alostérico AMP y por el inhibidor competitivo fructosa-2,6-bisfosfato. La inhibición de la actividad FBPasa por el nucleótido es cooperativa, presentando un coeficiente de Hill igual a 2,0. Para comprender en mayor detalle el mecanismo de inhibición alostérica y de propagación de la señal cooperativa, se reemplazó el residuo fenilalanina 16, contiguo a la interfase C1-C4, por triptófano. Al comparar las propiedades cinéticas de la mutante y de la enzima silvestre no se encontraron diferencias significativas a excepción de la inhibición por AMP. La enzima mutante no presentó cooperatividad en la inhibición por AMP, sino que presentó una curva de inhibición bifásica, sugiriendo que el nucleótido se une a sitios de la enzima con afinidades marcadamente diferentes. La mutante exhibió un máximo de emisión de fluorescencia a 337 nm y esta emisión fue perturbada por AMP. Los resultados de estudios de unión fluorimétricos concuerdan con la hipótesis que establece que la unión de AMP y magnesio a la enzima es mutuamente excluyente. Por otra parte, los datos demuestran que el residuo fenilalanina en posición 16 tiene un papel crítico en la propagación de la señal cooperativa inducida por AMP.

FONDECYT1051122; DID UACH S-200574.

REMOCIÓN SISTEMÁTICA DE RESIDUOS DEL CARBOXILO TERMINAL DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. EFECTOS SOBRE LA CATALISIS Y REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA (Systematic deletion of C-terminal residues of phosphofructokinase-2 from *E. coli*. Effects on the catalysis and regulation of the enzymatic activity). Merino F, Baez M, Cabrera R, Babul J. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La fosfofructoquinasa-2 (Pfk-2) de *E. coli*, miembro de la familia riboquinasa de quinasas de azúcares, es regulada negativamente por la unión del MgATP, lo que ha sido correlacionado con un cambio de estado de agregación de dímero a tetrámero. Sin embargo, no se han identificado los determinantes estructurales de la especificidad por el nucleótido en su sitio catalítico ni regulatorio. Estudios estructurales de miembros de la familia señalan la importancia de la región C-terminal en la unión del nucleótido al sitio activo. Por otra parte, la remoción por proteólisis limitada del extremo C-terminal de Pfk-2 produce inactivación y pérdida de la capacidad de formar tetrámeros. En este trabajo, se realizó una remoción sistemática de residuos en el C-terminal de Pfk-2 suponiendo que esta región está asociada a la inhibición de la actividad enzimática. La remoción progresiva de residuos desde el C-terminal produce un incremento en la Km aparente para MgATP, una pérdida de la sensibilidad a la inhibición por este sustrato y una disminución progresiva de la kcat sin afectar significativamente la Km aparente para fructosa-6-P. Estos resultados sugieren que la región C-terminal de Pfk-2 contiene determinantes estructurales que median los efectos de la unión de MgATP a la Pfk-2 sobre la actividad catalítica, la regulación y el cambio de estado de agregación de esta enzima.

Financiamiento: FONDECYT 1050818.

ESTUDIO DE LA PROTEÍNA P80-COILINA DE *C. carpio* COMO UN MARCADOR MOLECULAR DE CUERPOS DE CAJAL. (Study of p80-coilin protein of *C. carpio* as a molecular marker of Cajal Bodies.) Nardocci G¹, Thiry M², Navarro C, Reyes M, Álvarez R, Molina A, Krauskopf M, Vera Ml, Álvarez M. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, MIFAB, ¹Facultad de Química y Biología, USACH. ²BAT L3 Biologie Cellulaire, Université de Liège, Belgium.

El pez *C. carpio*, debe adaptarse fisiológicamente a los cambios físicos del medio ambiente (temperatura, fotoperíodo, etc.) que ocurren a largo del ciclo estacional. Previamente hemos reportado que durante un ciclo anual, las funciones moleculares y celulares de la carpa sufren una reprogramación cíclica en respuesta al estímulo ambiental. En este contexto, observamos una profunda reorganización de los componentes nucleolares. Teniendo en cuenta la asociación íntima entre el nucleolo y los cuerpos de Cajal, y para entender la relación entre ambos dominios durante aclimatación, hemos estudiado los cuerpos de Cajal de carpa a través de su marcador molecular, la proteína p80-coilina.

En el presente trabajo, caracterizamos p80-coilina y por primera vez identificamos los cuerpos de Cajal en peces. Mediante análisis inmunohistoquímicos de diferentes tejidos de carpas aclimatizadas, fue posible poner en evidencia los cuerpos de Cajal. Consistentemente, por medio de estudios de microscopía electrónica, demostramos que los cuerpos de Cajal son más abundantes en verano respecto a la estación invernal, mostrando tamaños variables y no se advierte un contacto evidente con el nucleolo. En resumen, nuestros resultados parecen indicar que, en *C. carpio*, la dinámica de la formación de los Cuerpos de Cajal está directamente relacionada con el proceso de aclimatación estacional.

FONDECYT 1040197, FONDECYT 7040132, DI/UNAB 45-04

UNIÓN COMPETITIVA ENDOFACIAL DE GOSSYPOL AL TRANSPORTADOR DE HEXOSAS GLUT1 (Endofacial competitive binding of gossypol to the hexose transporter GLUT1). Ojeda P, Pérez A, Valenzuela X, Reyes AM. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile..

Gossypol, un bisnaftaleno natural abundante en semillas de algodón, es capaz de bloquear la actividad funcional del transportador de hexosas GLUT1 en eritrocitos humanos a concentraciones micromolares. Para comprender el carácter de esta inhibición, estudiamos el efecto de gossypol sobre el transporte de metilglucosa en eritrocitos humanos, en ensayos cinéticos en condiciones de equilibrio y trans-cero de entrada. En ensayos de intercambio la inhibición fue de carácter competitivo, mientras que en condiciones trans-cero de entrada la inhibición fue no competitiva. Asimismo, ensayos de salida de D-glucosa en condiciones cis-infinito (ensayos de Sen-Widdas) muestran que gossypol no afecta la afinidad de D-glucosa a su sitio de unión externo. Por otra parte, estudios de unión a GLUT1, mediante la perturbación de la fluorescencia en membranas aisladas de eritrocitos humanos revelaron que este compuesto apaga la fluorescencia intrínseca del transportador de manera saturable. Este apagamiento no se alteró por la presencia de D-glucosa. Los valores determinados de Kd aparente y Qmax fueron de 0,1 µM y de 0,83 respectivamente. Estos datos sugieren que gossypol se une directamente al transportador GLUT1 y mediante esta unión apantalla eficientemente la mayor parte de los 6 residuos de triptófanos que posee el transportador. Por lo tanto, nuestros resultados demuestran que gossypol bloquea eficientemente el transporte de hexosas por unión directa a un sitio accesible desde la cara interna - endofacial - del transportador GLUT1.

Financiado por proyecto FONDECYT 1020908.

ANÁLISIS MOLECULAR DE LAS REGIONES CODIFICANTES DE LOS GENES RHO Y RDS EN PACIENTES CON RETINOSIS PIGMENTARIA DEL SUR DE CHILE (Molecular analysis of coding regions of Rho and RDS genes in patients with retinosis pigmentaria of southern Chile). Olavarría VH, Zárraga AM, León G. Inst. Bioquímica, Fac. Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El término de retinosis pigmentaria (RP) engloba una serie de enfermedades hereditarias retinianas progresivas que constituyen la causa más frecuente de ceguera de origen genético en el adulto. La enfermedad tiene una prevalencia mundial entre 1/3.000 y 1/7.000 habitantes. Se han identificado varios genes implicados en los diferentes tipos de RP. Alrededor del 30% de los casos se hereda con carácter autonómico dominante e involucra los genes RHO y RDS. En este trabajo se utilizaron las técnicas de PCR-SSCP y PCR-Heteroduplex para detectar mutaciones en los genes RHO y RDS en dos pacientes provenientes de las regiones IX y XI del país (P1 y P2, respectivamente). Ambos pacientes presentaban un diagnóstico clínico compatible con la enfermedad; sin embargo ninguno de los dos tenía antecedentes familiares conocidos de RP. Se extrajo ADN genómico de leucocitos para amplificar los 5 exones del gen de la rodopsina y los 3 del gen que codifica para periferina. En el caso del paciente P1, todos los exones fueron analizados por PCR-SSCP y luego fueron secuenciados. Cuando el tamaño del fragmento amplificado superó los 500 pb, se aplicó la técnica de heterodupletes. A la fecha, los resultados obtenidos de ambos pacientes no registran la presencia de mutaciones en ninguno de los dos genes. Futuros resultados de secuencia de los exones del paciente P2 permitirán descartar o identificar nuevas mutaciones asociadas a esta patología.

Financiado por Instituto Bioquímica, Facultad Ciencias, Universidad Austral de Chile.

EN LA BUSQUEDA DE MARCADORES MOLECULARES PARA DIAGNOSTICAR LA ENFERMEDAD DE CREUTZFELDT JAKOB

(In the search of molecular markers for Creutzfeldt Jacob disease diagnosis). Pando ME¹, Castillo E¹, Collados L¹, García L¹, Valenzuela MA¹, Cartier L², Kettlun AM¹. ¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile. ²Departamento de Neurología Facultad de Medicina Universidad de Chile.

La enfermedad de Creutzfeldt Jacob (CJ) es una enfermedad del sistema nervioso central (SNC) rápidamente progresiva y fatal. Molecularmente se caracteriza por un cambio conformacional de la proteína prion. Los síntomas clínicos pueden al comienzo confundirse con los de otras enfermedades neurológicas; hasta la fecha la única manera de confirmar con certeza el diagnóstico de CJ es mediante un estudio histológico del cerebro en el cual se observa una espongirosis. El propósito de esta investigación es encontrar marcadores moleculares detectables en fluidos biológicos accesibles como el líquido cefalorraquídeo (que es el mejor reflejo de lo que ocurre en el SNC) que permitan el diagnóstico *pre-mortem* de esta enfermedad. Se eligió la proteína 14-3-3 ampliamente utilizada como apoyo al diagnóstico de CJ pero el anticuerpo utilizado era inespecífico, lo mismo ocurrió con el anticuerpo contra calbindina que es una proteína que une Ca^{2+} y es abundante en células de Purkinje y de cerebelo se pensó en esta proteína por podría servir para definir la zona del SNC afectada. También se analizó el Heparán Sulfato proteoglicán (HSPG) proteína de la matriz extracelular que *in vitro* favorece la transición de la proteína prion normal a la proteína conformacionalmente alterada, con este anticuerpo específico por inmuno western blot se cuantificó por dot blot HSPG en controles, CJ esporádicos y CJ familiares pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Financiamiento: Proyecto MULT 04/03-2 DI Universidad de Chile.

ROL DE LA PROTEÍNA YQHD DE *E. coli* EN LA RESISTENCIA A TELURITO DE POTASIO.

(Role of the YqhD protein of *E. coli* in bacterial resistance to potassium tellurite). Pérez JM, Arenas FA, Pradenas GA, Saavedra CP*, Vásquez C. Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad de Santiago de Chile, *Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello.

La búsqueda de nuevos determinantes bacterianos de resistencia al tóxico telurito de potasio (K_2TeO_3) nos permitió relacionar la expresión de una posible alcohol deshidrogenasa de *E. coli* denominada YqhD, con un aumento en la resistencia a K_2TeO_3 . A la fecha se desconoce tanto el sustrato fisiológico como la reacción catalizada por YqhD. Sin embargo, datos disponibles en la literatura sugieren su potencial participación en respuesta a daño oxidativo. Con el fin de estudiar más precisamente la función de esta proteína se construyó una mutante *yqhD* de *E. coli*. La cepa *yqhD* resultó más sensible que la parental silvestre a K_2TeO_3 y a agentes generadores de estrés oxidativo. No se observó un efecto similar en relación a resistencia a $CdCl_2$ y diamida, cuya toxicidad no es dependiente de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Por otro lado, la sobreexpresión de YqhD generó un importante aumento en la resistencia de *E. coli* a K_2TeO_3 y a otros tóxicos generadores de ROS. Con el fin de relacionar el efecto de YqhD con ROS que se generarían potencialmente durante la exposición a K_2TeO_3 , utilizando la sonda H2DCFDA se determinó efectivamente que el K_2TeO_3

genera especies reactivas de oxígeno en la célula. Paralelamente y utilizando ensayos enzimáticos específicos se determinó que células de *E. coli* expuestas a telurito de potasio exhiben un aumento en la actividad de la superóxido dismutasa, lo cual sugiere la génesis de anión superóxido. Además, se observó una disminución de actividades enzimáticas blanco de ROS en presencia de telurito. Nuestros antecedentes sugieren que la proteína YqhD de *E. coli* participa en la resistencia a K_2TeO_3 a través de una posible actividad antioxidante sobre especies reactivas de oxígeno generadas por esta sal.

FINANCIADO POR FONDECYT 1030234.

FOSFOGLUCOMUTASA DE OOCITOS DE ANFIBIO.

(Phospho-glucomutase from frog oocytes). Quiroga, D, Preller A, Ureta T. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La enzima fosfoglucomutasa (PGM) cataliza la conversión reversible de glucosa-6-P en glucosa-1-fosfato. La reacción forma parte de la vía directa para la síntesis de glicógeno. Uno de nuestros objetivos es aplicar los postulados del análisis del control metabólico a la operación de la vía para estudiar el efecto que las enzimas participantes tienen sobre el control del flujo. La cuantificación del efecto implica determinar los coeficientes de control para cada enzima. Ello puede hacerse microinyectando a las células cantidades crecientes de la enzima de interés (usualmente entre 2 y 6 veces el nivel endógeno). Se procedió entonces a determinar la actividad endógena de PGM en los oocitos y a caracterizar parcialmente la enzima. La actividad de ésta se mide espectrofotométricamente cuantificando el NADH producido al acoplar la reacción de la glucosa-6-P deshidrogenasa a la producción de glucosa-6-P. La actividad endógena de PGM en oocitos resultó ser igual a $41 \pm 3,1$ mU por oocito y su actividad es máxima a pH 7.5. Cuando se midió la actividad de la enzima en extractos crudos se obtuvo una curva de tiempo que es lineal durante un tiempo experimental apropiado. La cinética para el sustrato glucosa-1-P es hiperbólica, con una K_{mapp} de 0,16mM y una V_{max} igual a 4,3 mU/ml.

La microinyección de cantidades crecientes de PGM a los oocitos produjo una fuerte inhibición de la incorporación de glucosa en glicógeno. Por esta razón, se encontró un valor negativo para el coeficiente de control. Estamos estudiando algunos factores que puedan explicar este resultado, entre ellos una acumulación del intermediario glucosa-1,6-bisP, que se sabe que es muy buen inhibidor de algunas hexoquinatas. Financiado por FONDECYT, 1040886.

RESPUESTA DE FASE AGUDA Y MARCADORES DE PROLIFERACIÓN EN TEJIDO HEPÁTICO DE RATA FRENTE A LA ADMINISTRACIÓN DE PARACETAMOL (APAP).

(Acute phase proteins and proliferative indicators in rat liver after acetaminophen administration). Santander GA, Cartier-Ugarte D, Rodríguez D, Varela P, Fernández V, Videla LA. Programa de Farmacología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Elevadas dosis de APAP, así como la hepatitis viral, son las principales causas de insuficiencia hepática aguda. Frente a este daño tisular, se inducen diversos mecanismos de reparación como la respuesta de fase aguda y la proliferación. Existe un conjunto de citoquinas involucradas en la respuesta de fase aguda, tales como: IL-1, TNF- α e IL-6. Se ha descrito que altas dosis de APAP elevan los niveles de IL-6, además de inducir la regeneración hepática. Por otro lado, esta citoquina regula la expresión de genes de fase aguda vía JAK/STAT. STAT-3 adquiere relevancia debido a su unión a secuencias específicas en la región promotora de genes relacionados con la repuesta de fase aguda, activando la transcripción de los genes de α_2 -macroglobulina, β -fibrinógeno y haptoglobina.

Para evaluar esta vía de respuesta de fase aguda (IL-6, STAT-3 y β -fibrinógeno) y el marcador de proliferación Ki67, se utilizaron ratas tratadas con 500 mg/Kg de APAP. Respecto a controles, las ratas tratadas muestran aumentos en los niveles séricos de IL-6 y actividad de STAT-3, con valores máximos a las 12 y 16 horas posteriores al fármaco, para IL-6 y STAT-3 respectivamente, con incrementos en la expresión de Ki67 y β -fibrinógeno a las 24 y 16 horas posteriores al APAP respectivamente. Se concluye que dosis elevadas de APAP estimulan la proliferación celular por la vía IL-6/STAT3/ β fibrinógeno, involucrando así la respuesta de fase aguda. Financiamiento FONDECYT 1050131 y Beca Postgrado U. de Chile PG/77/2004.

REDUNDANCIA DE GENES QUE CODIFICAN PARA SUBUNIDADES DEL COMPLEJO II DE LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL DE *A. thaliana* (Gene redundancy for genes encoding respiratory chain complex II subunits in *A. thaliana*). Tapia R, León G, Jordana X. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El complejo II de la cadena transportadora de electrones mitocondrial está compuesto por cuatro subunidades: una flavoproteína, una proteína hierro-azufre y dos subunidades integrales de membrana. En *A. thaliana*, la flavoproteína está codificada por dos genes nucleares (*SDH1-1* y *SDH1-2*) y la proteína hierro-azufre está codificada por tres genes nucleares (*SDH2-1*, *2* y *3*). Para analizar si existe o no redundancia funcional entre los genes que codifican para una misma subunidad, en nuestro laboratorio se han aislado líneas mutantes insercionales para cada uno de ellos. Sólo en el caso de *SDH1-1* se observó un fenotipo alterado, afectándose el desarrollo de los gametos, lo que nos impidió la obtención de plantas homocigotas mutantes y el análisis de la función de *SDH1-1* en tejidos adultos. Para abordar este objetivo, se generaron líneas transgénicas silenciadas en el gen *SDH1-1* mediante RNAi. Se utilizó iRNA bajo el control de un promotor inducible o de uno constitutivo y se analizó el fenotipo de las líneas silenciadas. Por otro lado, hemos observado que en plantas homocigotas mutantes para *SDH2-1*, que no tienen diferencias fenotípicas con plantas silvestres, hay un aumento de la expresión de *SDH2-2*, lo que sugiere un mecanismo de compensación que podría explicar la ausencia de cambios fenotípicos.

Financiado por Fondecyt 1020930, PICS 2179 (CNRS-Francia-Conicyt), Beca AT2003 a GL.

BASES MOLECULARES DE LA AUSENCIA DE SÍNTESIS DE GIBERELINAS EN *Fusarium proliferatum*. (Molecular basis of the lack of gibberellin biosynthesis in *Fusarium proliferatum*) Troncoso C, Cárcamo J, Fuentes P, Ponce I, Castillo A, Rojas MC. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El hongo filamentoso *Fusarium proliferatum*, patógeno del maíz, pertenece al complejo taxonómico *Gibberella fujikuroi* que contiene por lo menos 9 especies biológicas. *Fusarium proliferatum* no produce giberelinas (GAs) a pesar de contener los 7 genes biosintéticos y de estar filogenéticamente muy relacionado con *Fusarium fujikuroi*, especie productora de giberelinas. Mediante el análisis funcional de los productos de expresión de los genes de *F. proliferatum* demostramos que la secuencia biosintética está bloqueada en tres etapas tempranas. Una de ellas es la oxidación secuencial del ent-[¹⁴C]kaureno, precursor que no fue metabolizado por los cultivos ni por la transformante SG139-P450-4 que contiene únicamente el gen de la ent-kaureno oxidasa. La síntesis de -[¹⁴C]GA1 a partir de ác. ent-[¹⁴C]kaurenoico indicó que las oxidases posteriores, GA14 sintetasa, C20 oxidasa y 13-

hidroxilasa, están activas en *F. proliferatum* a diferencia de la 1,2 desaturasa que estaría inactiva o muy reducida. La ausencia de ent-kaureno en los cultivos indicó bloqueos adicionales, en etapas anteriores a este intermediario, los que se identificaron a nivel de la ent-kaureno sintetasa (*cps/ks*) y de la geranilgeranildifosfato sintetasa (*ggs2*) utilizando mutantes de disrupción de *F. fujikuroi* en estos genes, complementadas con los genes respectivos de *F. proliferatum*.

Finalmente demostramos que cepas de *F. proliferatum* complementadas en las etapas bloqueadas con los genes de *F. fujikuroi*, recuperan la capacidad de síntesis de giberelinas, identificándose por GC/MS ácido giberélico (GA3), GA4 y GA7 en el medio de cultivo.

Trabajo financiado por FONDECYT 1020140

LÍNEA BASE PARA LA INNOVACIÓN CURRICULAR EN LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE (Baseline for curricular innovation in the School of Biochemistry of the Universidad Austral of Chile). Velásquez Z, Reyes AM. Escuela de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Las escuelas de Bioquímica del país han actualizado o se encuentran reorganizando sus planes curriculares para orientar la enseñanza sobre la base de competencias y para acortar el tiempo de permanencia de sus estudiantes en las carreras. Un análisis riguroso de estos cambios requiere conocer cuál ha sido el quehacer previo de cada carrera (línea base). La carrera de Bioquímica en la Universidad Austral de Chile se fundó en 1981 y a la fecha ha graduado 265 profesionales. Su Plan de Estudios ha contemplado una duración total de 7 años, dividido en 10 semestres de asignaturas, más 4 semestres de actividades terminales (práctica profesional + Tesis). Un 40 % de los titulados completó el Plan de asignaturas en el tiempo previsto y un adicional 32,7% se rezagó 1 año, conducta semejante al del resto de las carreras de la Facultad. No obstante, sólo un 30 % completó sus actividades terminales en al menos 4 semestres; para la población total de titulados el promedio de permanencia fue de 4,9 semestres. Ambos factores (mayor duración del plan de asignaturas y larga permanencia en actividades terminales) determinaron que sólo el 15% de los titulados cumplió con un tiempo de permanencia de 7 años y un 26,5% se tomó al menos 1 año adicional; la permanencia real en la carrera ha sido de 8,7 años. No encontramos una relación entre el rendimiento académico y la permanencia. No obstante, se detectó una alta diferencia en la tasa de titulación entre promociones. Estos resultados resaltan la necesidad de aplicar estrategias de enseñanza innovadoras desde el ingreso de los estudiantes, que permitan acortar su tiempo de permanencia en la carrera.

EVALUACIÓN DE LAS APOLIPOPROTEÍNAS APOA-I Y SÉRICA AMILOIDE A DURANTE LA RESPUESTA DE FASE AGUDA EN TRUCHA ARCO IRIS (Evaluation of the apolipoproteins apoA-I and serum amyloid A during the acute phase response in rainbow trout). Villarreal F, Casado A, Anthauer R, Concha MI. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

En mamíferos las apolipoproteínas A-I (apoA-I) y sérica amiloide A (A-SAA) circulan asociadas a partículas de lipoproteína de alta densidad (HDL) y corresponden a reactantes de fase aguda (RFA) negativa y positiva, respectivamente. Ello implica que su síntesis hepática varía en respuesta a citoquinas proinflamatorias liberadas durante la fase aguda.

Debido a su abundancia y potente actividad antimicrobiana, tanto HDL como apoA-I, han sido consideradas

importantes efectores de la respuesta inmune innata en trucha arco iris y carpa.

En el presente estudio se evaluó *in vivo* e *in vitro* la expresión de apoA-I y A-SAA en hígado y hepatocitos aislados de truchas asintomáticas, naturalmente enfermas o desafiadas con lipopolisacárido (LPS), mediante RT-PCR, Western blot e inmunohistoquímica. Adicionalmente se evaluó la expresión de ambas apolipoproteínas en tejidos extrahepático que constituyen barreras defensivas de primera línea, tales como piel e intestino.

Los resultados indican que apoA-I no varía significativamente su expresión hepática y concentración plasmática durante la fase aguda, lo que representaría una ventaja para estos peces ya que mantendrían altos niveles de esta proteína defensiva durante la fase aguda. Por otra parte, tanto en hígado de truchas enfermas como en hepatocitos estimulados con LPS, se observó un aumento moderado de la expresión de A-SAA, inmunodetectándose por primera vez la proteína en hígado y en el medio de cultivo de hepatocitos, pero no en el plasma de estos peces.

FONDECYT 1050637 y DID-UACH 200440.

ESTUDIOS PRELIMINARES DE UDP-GLUCOSA PIROFOSFORILASA DE OOCITOS DE ANFIBIO (Preliminary studies on UDP-glucose pyrophosphorylase from frog oocytes) Wilson CAM^{1,2}, Díaz AE^{1,2}, Preller A¹, Valenzuela MA², Ureta T¹. ¹Facultad de Ciencias, ²Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La enzima UDP-glucosa pirofosforilasa (UDPG-PPasa) cataliza la reacción $UTP + \text{glucosa-1-fosfato} \rightleftharpoons \text{UDP-glucosa} + \text{PPi}$. Esta es una reacción reversible que se encuentra en todos los organismos hasta ahora estudiados. Además de su función clave en la síntesis de disacáridos y polisacáridos, la enzima es esencial en la síntesis de la parte carbohidrato de glicolípidos, glicoproteínas y una variedad de metabolitos secundarios. La actividad de UDPG-PPasa en extractos crudos de oocitos de *C. caudiverbera* se midió en el sentido de la formación de UDP-glucosa por electroforesis capilar. Las corridas se realizaron en un capilar no protegido de 57 cm de longitud y 50 μm de diámetro, a un voltaje de 22 kV. La señal

del nucleótido se determinó a 254 nm. Cuando se aplicó el método para medir la actividad de la enzima en extractos crudos se obtuvo una curva de tiempo lineal durante un tiempo experimental apropiado. La reacción reversa se midió por el método espectrofotométrico, acoplando y cuantificando la formación de NADPH a 340 nm. La actividad endógena de la enzima en oocitos resultó ser alrededor de 12 mU/ocito. La enzima presenta una actividad máxima a pH 8,5. En relación a las constantes cinéticas para los sustratos de la reacción reversa, se encontró que la enzima tiene cinética sigmoidea para pirofosfato, con un $K_{0,5}$ de alrededor de 460 μM y un nH mayor que 2.0. La cinética para UDP-glucosa es hiperbólica, con una K_{mapp} de 50 μM . La información obtenida será importante para estudiar el efecto que tiene la enzima en el control del flujo por la vía, particularmente en la determinación del coeficiente de control de ésta.

Financiado por Fondecyt, 1040886.

INDICE GENERAL

Programa	2	Casaretto JA	24
Conferencias	13	Castillo A	38,39,43,46
Simposios	16	Castillo E	45
Talleres	20	Castro L	40
Incorporaciones I	23	Chilian RJ	33
Incorporaciones II	25	Collados L	45
Comunicaciones libres I	27	Concha MI	46
Comunicaciones libres II	30	Corsini G	24
Comunicaciones libres III	32	Cottet L	38,39,43
Comunicaciones libres IV	34	Cuadros A	18
Paneles	37	De Armas M	33
		De Ioannes P	31
		DeBoer AH	24
Aguayo VD	38	Delgado I	36,41
Alarcón R	36,38,42	Díaz AE	47
Alva O	28,40	Díaz R	17
Alvarez M	36,41,42,44	Duplessis S	28
Alvarez R	44	Durruty P	42
Alvo M	42	Echeverría M	29
Amthauer R	46	Encinas MV	34
Araya MA	30	Enriquez S	24
Arbildúa JJ	17	Escobar S	36,41
Arenas FA	38,45	Espinoza R	41
Arenas M	34	Eyzaguirre J	21,31
Armijo J	38	Fajardo H	28
Arriagada A	31	Fernández V	32,45
Asenjo JL	39,43	Fichet T	18
Babul J	21,44	Figueroa J	40
Báez M	44	Figueroa M	33,41
Balbontin C	39	Foix P	30
Barquin I	42	Fritz M	31
Berneche S	33	Fuentes C	41
Bittner M	30	Fuentes D	30
Blumwald E	19	Fuentes E	30,36,41
Bouvet P	42	Fuentes P	46
Braet C	31	Gaete -Eastman C	39
Bravo C	35	Galanti N	32,35
Bruna C	32	Garcés A	17,28
Bulnes P	29,39	García A	28
Bunster M	32,33,41	García L	24,45
Burgos F	32,33	García MA	24
Bustamante P	39	García R	38,42
Cabello G	31	Garratt R	46
Cabrera JR	33	Garrido L	22
Cabrera N	28,40	Gil F	30
Cabrera R	17,21,40,44	Golusda C	34
Caniuguir A	40	Gompert B	31
Cárcamo J	46	González R	42
Cardemil E	34,38,41	González W	33
Carrasco MA	35	González-Martínez G	42
Cartier L	45	González-Nilo FD	17,22,29,33,34,38,39
Cartier-Ugarte D	45	González-Villanueva E	18,28,33,40
Carvajal N	24,25,36,38,42	Grothusen H	40
Carvallo M	31	Guajardo L	42
Casado A	46	Guerra F	28
		Guinovart J	14

Guixé V	17,21,40	Muñoz A	40
Gutierrez J	30	Muñoz C	30,31,34
Gutierrez M	21	Muñoz P	34,35
Guzmán M	14	Nardocci G	44
Herráez A	22	Navarrete M	31
Herrera R	39	Navarro C	31,36,41,44
Hidalgo C	35	Neira B	36,38,42
Hinrichsen P	18	Nieto S	34
Holmes D	29,43	Nualart F	24
Holuigue L	29	Nuñez A	35
Inostroza C	43	Ojeda P	44
Ipinza F	30	Olavarría VH	44
Israel Y	31,42	Orellana MS	36,38,42
Jabalquinto AM	38	Orellana O	33,43
Jeldres O	43	Pagé M	19
Jiménez V	32,35	Pando ME	45
Jordana X	29,46	Paredes R	35
Katz A	17,33,43	Peña-Cortés H	18
Kausel G	40	Pérez A	29,44
Kemmerling U	35	Pérez JM	30,34,45
Kettlun AM	45	Pérez LM	29
Kohler A	28	Pinto M	18
Krauskopf M	44	Poblete F	28,33
Kruger E	43	Podestá E	14
Lagos R	17	Polanco R	2,29
Latorre R	33	Ponce I	46
Lebed P	28	Pouchoucq L	32
Le-Feuvre R	30	Pradenas GA	45
León G	44,46	Prades M	31
León O	28	Prat S	25
Letelier I	29	Preller A	21,45,47
Levicán G	33,43	Prieto H	18
Lobos L	31	Quintanilla ME	42
Lobos S	25,42	Quiroga D	45
Lobos-González L	31,42	Raddatz N	29
Ludwig HC	39,43	Ramírez C	30
Manosalva H	34	Ramírez I	18
Martin F	28	Ravanal C	31
Martínez F	24	Reyes AM	21,29,39,44,46
Martínez J	38	Reyes M	42,44
Martínez-Oyanedel J	32,33,41	Riadi G	29
Maureira MA	39,43	Riedel C	31
Mendoza H	22	Ríos JC	20
Merino F	44	Riquelme A	18
Meza-Basso L	30	Riquelme G	32
Miquel A	34,36,41,42,44	Rivas JA	41
Moggia C	35	Riveros S	22,29
Molina A	31,36,41,42,44	Rodríguez D	45
Moltó N	36,41	Rodríguez-Falcon M	25
Monasterio O	17	Rojas A	42
Montealegre J	29	Rojas MC	18,46
Montecinos F	17	Romero A	40
Mora G	30,38	Rosales M	18,25
Moya M	39	Rosenblatt M	34
Moya-León MA	22,35,39	Ruiz-Lara S	18,28,31
Muller M	35,40	Saavedra CP	30,34,38,45

Salas M	21
Salazar M	28,40
San Segundo B	18
Sánchez G	35
Sandoval M	30
Sanhueza J	34
Santander GA	45
Sapag A	31,42
Saragoni V	25
Schooheim P	24
Seelenfreund D	42
Sepúlveda J	33
Siebe JC	36,39,43
Solis V	22
Soll D	43
Sosa MA	35
Spichiger C	36
Tampier L	42
Tapia G	31
Tapia J	28
Tapia R	46
Thiry M	44
Tirado A	42
Toledo V	43
Troncoso C	46
Ureta T	45,47
Uribe E	14,38,42
Valderrama L	29
Valdés C	31
Valenzuela A	34
Valenzuela M	31
Valenzuela MA	14,45,47
Valenzuela P	43
Valenzuela PD	34
Valenzuela X	29,44
Varela P	32
Varela P	45
Vásquez C	30,34,45
Velásquez Z	46
Venable RM	34
Vera J	28
Vera MI	36,41,42,44
Vera T	40
Vergara M	35,39
Vicuña R	21, 25
Videla LA	32,45
Villareal JM	38,41
Villarroel F	46
Wandersleben T	32
Wilhelm V	34
Wilson CAM	47
Yañez AJ	36,39,43
Yañez M	31
Zárraga AM	44

