



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

**25-28 de Septiembre de 2007  
Termas de Chillán  
CHILE**

*M. Victoria Hernández*

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

25-28 de Septiembre de 2007

Termas de Chillán, Chile

**Directorio**

PRESIDENTE	:	Xavier Jordana
PRESIDENTE ANTERIOR	:	Claudio Vásquez
VICE PRESIDENTE	:	Juan Olate
SECRETARIO	:	Marcelo López-Lastra
TESORERA	:	Ana Preller
DIRECTORES		
Santiago	:	Pilar Carvallo
	:	Gino Corsini
Concepción	:	José Martínez-Oyanedel
Valdivia	:	Gloria León
Talca	:	Simón Ruiz

## **AUSPICIADORES**

### **INSTITUCIONES**

Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia  
Universidad Católica de Chile

Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

Facultad de Ciencias Biológicas y Vicerrectoría  
Académica, Universidad de Concepción

Fundación Chilena para Biología Celular

FONDAP Centro de Regulación Celular y  
Patología "Dr. Joaquín Luco V."

Núcleo Milenio en Inmunología e Inmunoterapia

Universidad de Chile, Vicerrectoría de  
Investigación y Desarrollo

Universidad Diego Portales

Universidad Nacional Andrés Bello,  
Vicerrectoría de Investigación y Postgrado

SDT-USACH y Vicerrectoría de Investigación y  
Desarrollo, Universidad de Santiago de Chile

PABMB

# EMPRESAS



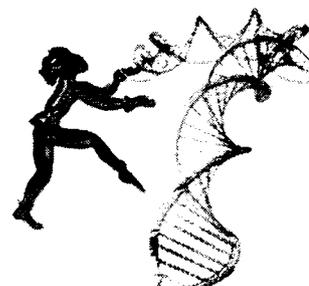
ANDES IMPORT



BIOS CHILE I.G.S.A.



BIOSCAN



FERMELO Biotec

FERMELO S.A.



GENESYS



GENEXPRESS



MERCK



GALENICA

# *Programa*

MARTES 25 DE SEPTIEMBRE

11:00-15:00

INSCRIPCIONES

13:00-14:30

ALMUERZO

15:30-16:45

CONFERENCIA INAUGURAL

Sala A

**ACOPLAMIENTO DE LA TRANSCRIPCIÓN Y EL SPLICING ALTERNATIVO** (Coupling of transcription and alternative splicing) Muñoz, M<sup>1</sup>, de la Mata, M<sup>1</sup>, Schor, I<sup>1</sup>, Pérez-Santángelo, S<sup>1</sup>, Rascován, N<sup>1</sup>, Fededa, J<sup>1</sup>, Petrillo, E<sup>1</sup>, Alló, M<sup>1</sup>, Kornblihtt, Alberto<sup>1</sup> LFBM, IFIByNE-CONICET, FCEN, Universidad de Buenos Aires. Argentina<sup>1</sup>.

Presenta: Xavier Jordana

16:45-18:30

SIMPOSIO I

Sala A

**EVOLUCIÓN BIOQUÍMICA DE LA NUTRICIÓN: DESDE EL PALEOLÍTICO HASTA EL MONO OBESO**

WWW.MCNO-obeso.typepad.com Coordinador: Alfonso Valenzuela

16:45 **¿PORQUE COMEMOS LO QUE COMEMOS?** (Why we eat that we eat?) Campillo Álvarez, J<sup>1</sup>. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Extremadura. Badajoz. España.<sup>1</sup>

17:15 **ACIDOS GRASOS OMEGA-3, UN PARADIGMA BIOQUIMICO Y NUTRICIONAL** (Omega-3 Fatty Acids, a Nutritional and Biochemical Paradigm) Valenzuela B, A<sup>1</sup>. INTA, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

17:45 **DE LA DIETA A LA EXPRESIÓN GÉNICA: OPORTUNIDADES Y DESAFÍOS EN MICRONUTRIENTES.** (From diet to genic expression: opportunities and challenges in micronutrients.) Suazo R, M<sup>1</sup>. Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>1</sup>

18:30-19:00

CAFÉ

18 → verde  
20 → roja  
30 → chicharra

7:21  
18  
7:39

19:00-21:00

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN

Sala A

Presidente: Octavio Monasterio  
Secretaria: María Victoria Hinrichs

19:00

**DIABETES GESTACIONAL REPRIME TRANSCRIPCIÓN DEL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS 1 EN ENDOTELIO FETAL HUMANO VIA CHOP-CEBP ALFA Y ÓXIDO NÍTRICO** (Gestational diabetes represses transcription of equilibrative nucleoside transporter 1 in human fetal endothelium via hCHOP-CEBP alpha and nitric oxide) Farias, M<sup>1</sup>, Puebla, C<sup>1</sup>, Casanello, P<sup>1</sup>, Sobrevia, L<sup>1</sup>. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular y Laboratorio de Investigación en Perinatología, Departamento de Obstetricia y Ginecología. Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>1</sup> Patrocinante: López-Lastra, M.

19:30 ✓ **TRAUCO, GEN HOMÓLOGO AL GRUPO TRITHORAX, ES ESENCIAL PARA LA EMBRIOGÉNESIS TEMPRANA EN ARABIDOPSIS THALIANA.** (TRAUCO, a homologue of TRITHORAX group gene, is essential for early embryogenesis in Arabidopsis thaliana.) **Aquea, F.**, **Matte, J.**<sup>1</sup>, Grossniklaus, U<sup>2</sup>, Arce-Johnson, P<sup>1</sup>. Laboratorio de Bioquímica. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>1</sup>, Plant Science Center, Universidad de Zurich, Suiza<sup>2</sup>.

8:50  
18  
8:48  
9:08  
↓  
9:20

X 20:00 **LA ACTIVIDAD CONSTITUTIVA DE LA SUBUNIDAD ALFA DE LA PROTEÍNA G HETEROTRIMÉRICA PGA1 ALTERA EL FENOTIPO DE PENICILLIUM ROQUEFORTI Y ESTIMULA LA PRODUCCIÓN DE LA MICOTOXINA ROQUEFORTINA C.** (Constitutive activity of heterotrimeric G- protein alpha subunit changes Penicillium roqueforti phenotype and stimulates roquefortin C production) **Chavez, R.**<sup>1</sup>, Garcia-Rico, R<sup>2</sup>, Vaca, I<sup>3</sup>, Fierro, F<sup>4</sup>, Martin, J<sup>3</sup>. Fac Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile<sup>1</sup>, Fac Ciencias, Universidad de Pamplona, Colombia<sup>2</sup>, Instituto de Biotecnología León, España<sup>3</sup>, Universidad Autónoma Metropolitana, México.<sup>4</sup>. Patrocinante: Eyzaguirre, J.

8:20

20:30 **4-6-DIAMIDINO-2-FENILINDOL (DAPI) INDUCE LA FORMACIÓN DE MANOJOS DE POLÍMEROS DE FTSZ DE ESCHERICHIA COLI E INHIBE LA ACTIVIDAD GTPÁSICA** (4-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) induces bundling of Escherichia coli FtsZ polymers inhibiting the GTPase activity) **Nova, E.**<sup>1</sup>, Montecinos, F<sup>1</sup>, Brunet, J<sup>2</sup>, Lagos, R<sup>1</sup>, Monasterio, O<sup>1</sup>. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile<sup>1</sup>, Instituto de Química, PUCV<sup>2</sup>.

21:00 COCKTAIL INAUGURAL Y CENA

22:00 en adelante INSTALACIÓN DE PANELES

## MIÉRCOLES 26 DE SEPTIEMBRE

9:00 :00

### SIMPOSIO II

Sala A

#### REMODELACIÓN DE CROMATINA Y REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL

Coordinador: Martín Montecino

09:00 **ATP-DEPENDENT CHROMATIN REMODELING COMPLEXES AND NUCLEOSOME EVICTION ON GENE PROMOTERS** (ATP-dependent chromatin remodeling complexes and nucleosome eviction on gene promoters) **Gutierrez, J.**<sup>1</sup>. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

09:30 **CHROMATIN REMODELING AND TRANSCRIPTIONAL ACTIVATION OF BONE-PHENOTYPIC GENES: REGULATION AT EARLY AND LATE STAGES OF OSTEOBLAST DIFFERENTIATION** (Chromatin remodeling and transcriptional activation of bone-phenotypic genes: Regulation at early and late stages of osteoblast differentiation) **Montecino, M.**<sup>1</sup>. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

10:00 **SPATIAL CHANGES IN GENE ORGANIZATION AND THE TEMPORAL REGULATION OF MYOGENIC GENE EXPRESSION** (Spatial changes in gene organization and the temporal regulation of myogenic gene expression) **Imbalzano, A.**<sup>1</sup>. University of Massachusetts Medical School<sup>1</sup>.

11:00-11:30 CAFÉ

11:30-12:45

CONFERENCIA SEVERO OCHOA

Sala A

**PROLIFERAR O DIFERENCIARSE: UN DELICADO BALANCE DURANTE EL DESARROLLO** (Divide or differentiate: a fine balance during development) **Gutiérrez, Crisanto**. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049 Madrid.

Presenta: Juan Olate

13:00-14:30 ALMUERZO

14:30-17:00

COMUNICACIONES LIBRES I

Sala A

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS

Presidente: Omar Orellana

Secretaria: Marta Bunster

14:30 **CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCOPICA DE PEPTIDOS DE R-FICOERITRINA DE GRACILARIA CHILENSIS** (Spectroscopic characterization of peptides from *Gracilaria chilensis* R-phycoerythrin) **Sepúlveda-Ugarte, J<sup>1</sup>**, Martínez-Oyanedel, J<sup>1</sup>, Bunster, M<sup>1</sup>. Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

14:45 **REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE TETRAPIRROLES EN ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS. UNIÓN DE HEMO A LA GLUTAMIL-TRNA REDUCTASA.** (Regulation of tetrapyrroles biosynthesis in *A. ferrooxidans*. Binding of heme to GluTR.) **de Armas, M<sup>1</sup>**, Levicán, G<sup>1</sup>, Katz, A<sup>1</sup>, Orellana, O<sup>1</sup>. Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.<sup>1</sup>

15:00 **ROL DEL ASA FLEXIBLE (AMINOACIDOS 208-220) DE LA INTEGRASA DE M-MULV EN LA INTEGRACIÓN CONCERTADA** (Role of the flexible loop (amino acids 208 to 220) of M-MuLV Integrase in concerted integration) **Acevedo, M<sup>1</sup>**, Valenzuela, B<sup>1</sup>, León, O<sup>1</sup>. Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

15:15 **ASIMETRÍA EN LA UNIÓN DE SUSTRATO EN LA FBPASA DE RIÑÓN DE CERDO. UN FENÓMENO INDUCIDO?** (Asymmetry in the binding of substrate in the pig kidney Fbpase. An induced phenomenon?) **Asenjo, J<sup>1</sup>**, Ludwig, H<sup>1</sup>, Yañez, A<sup>1</sup>, Slebe, JC<sup>1</sup>. Laboratorio de Enzimología, UACH<sup>1</sup>.

15:30 **IDENTIFICACION DE AMINOACIDOS IMPORTANTES PARA LA FUNCION DEL TRANSPORTADOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO SVCT2.** (Identification of key residues for the function of the ascorbic acid transporter SVCT2) **Ormazabal, V<sup>1</sup>**, Zuñiga, F<sup>1</sup>, Aylwin, C<sup>1</sup>, Salas, A<sup>1</sup>, Haensgen, H<sup>1</sup>, Muñoz, A<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>, Vera, JC<sup>1</sup>. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

15:45 **RELEVANCIA DE SITIOS DE UNIÓN A CA<sup>2+</sup> Y MG<sup>2+</sup> EN EL MECANISMO DE TRANSPORTE DE ACIDO ASCORBICO MEDIADO POR EL TRANSPORTADOR SVCT2.** (Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> binding site importance in the ascorbic acid transport mechanism mediated by the SVCT2 transporter.) **Haensgen, H<sup>1</sup>**, Zuniga, F<sup>1</sup>, Ormazabal, V<sup>1</sup>, Aylwin, C<sup>1</sup>, Pacheco, C<sup>1</sup>, Elizabeth, E<sup>1</sup>, Vasquez, O<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>, Vera, J<sup>1</sup>. Laboratorio de Antioxidantes, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.<sup>1</sup>

- 16:00 **R701 Y K710 NO DETERMINAN LA UNIÓN ESPECÍFICA DE PI(4,5)P2 AL C-TERMINAL DE TRPV1** (R701 and K710 do not determine the specific binding of PI(4,5)P2 to the C-terminal of TRPV1) **Oyarzún, I<sup>1</sup>**, Raddatz, N<sup>2</sup>, Rosenmann, E<sup>1</sup>, Orta, G<sup>1</sup>, Brauchi, S<sup>1</sup>, Latorre, R<sup>1</sup>. CECS<sup>1</sup>, CECS, UACH<sup>2</sup>.
- 16:15 **IMPORTANCIA DE AMINOÁCIDOS CONSERVADOS EN LA FOSFOFRUCTOQUINASA DEPENDIENTE DE ADP DE *P. HORIKOSHII*** (Importance of conserved aminoacid residues in the ADP-dependent phosphofructokinase from *P. horikoshii*) **Merino, F<sup>1</sup>**, Caniguir, A<sup>1</sup>, Brown, G<sup>2</sup>, Koshi, S<sup>2</sup>, Yakunin, A<sup>2</sup>, Guixé, V<sup>1</sup>. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>, Structural Genomics Consortium, University of Toronto, Toronto, Canada<sup>2</sup>.
- 16:30 **IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE UN SITIO ESTRUCTURAL DE UNIÓN A NUCLEOTIDOS EN EL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT1** (Structural Identification of nucleotide binding site in the glucose transporter GLUT1) **Zuniga, F<sup>1</sup>**, Ormazabal, V<sup>1</sup>, Salas, A<sup>1</sup>, Aylwin, C<sup>1</sup>, Haensgen, H<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>, Vera, J<sup>1</sup>. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.
- 16:45 **ESTADO DE AGREGACION E INHIBICION DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. COLI* POR MGATP.** (Aggregation state and MgATP inhibition of phosphofructokinase-2 from *E. coli*) **Baez, M<sup>1</sup>**, Babul, J<sup>1</sup>, Astorga, G<sup>1</sup>, Merino, F<sup>1</sup>. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.<sup>1</sup>

14:30-17:00

**COMUNICACIONES LIBRES II**

Sala 1

**EXPRESIÓN GÉNICA, BIOQUÍMICA Y PROTEÓMICA DE PLANTAS**

Presidente: Ariel Orellana

Secretaria: Alejandra Moya

- 14:30 **ESTUDIO PROTEOMICO DE LA FORMACION DE MADERA EN PINO MARITIMO** (Proteomic Study Of Wood Formation In Maritime Pine) **Garcés, M<sup>1</sup>**, Paiva, J<sup>2</sup>, Lalanne, C<sup>2</sup>, Claverol, S<sup>3</sup>, Le Provost, G<sup>2</sup>, Herrera, R<sup>1</sup>, Plomion, C<sup>2</sup>. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile<sup>1</sup>, UMR Biogeco 1202, INRA, Equipe de genetique, 69 route de Arcachon, CESTAS, France<sup>2</sup>, Pole Proteomique Genomique Fonctionnelle, Universite Victor Segalen-Bordeaux 2, Bordeaux, France<sup>3</sup>.
- 14:45 **ESTUDIO MOLECULAR DE LA RESPUESTA GRAVITROPICA EN PLANTULAS DE PINO** (Molecular study of the gravitropic response in pine seedlings) **Herrera, R<sup>1</sup>**, Moya, M<sup>1</sup>, Ramos, P<sup>1</sup>, Moya-León, M<sup>1</sup>, Plomion, C<sup>2</sup>. 1. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, 2 Norte 685 Talca Chile<sup>1</sup>, 2. INRA Génétique et amélioration des arbres forestiers BP45 33610 CESTAS Francia<sup>2</sup>.
- 15:00 **REDES DE COEXPRESION PARA LA ASIGNACION DE FUNCION PROTEICA EN ARABIDOPSIS.** (Coexpression networks in the protein function prediction in Arabidopsis.) **Vergara, A<sup>1</sup>**, Orellana, A<sup>1</sup>, Gutierrez, R<sup>2</sup>. Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal<sup>1</sup>, Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Núcleo Milenio en Genómica Funcional de Plantas<sup>2</sup>.
- 15:15 **TRANSPORTE DE S-ADENOSILMETIONINA (SAM) ES REQUERIDO PARA LA METILACION DEL HOMOGALACTURONANO EN EL APARATO DE GOLGI** (Transport of S-Adenosylmethionine (SAM) is required for methylation of homogalacturonan in the Golgi apparatus) **Ibar, C<sup>1</sup>**, Orellana, A<sup>1</sup>. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile<sup>1</sup>. Patrocinante: Vera, M.
- 15:30 **SOBREEXPRESIÓN DEL GEN LHCA1 INCREMENTA LA TOLERANCIA A ESTRÉS OXIDATIVO EN PLANTAS TRANSGÉNICAS DE TOMATE** (Overexpression of LHCA1 gene increases tolerance to oxidative stress in tomato transgenic plants) **Chilian, J<sup>1</sup>**, Verdugo, I<sup>1</sup>, Poblete, F<sup>1</sup>, Ruiz, S<sup>1</sup>, **González, E<sup>1</sup>**. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca<sup>1</sup>.

- 15:45 **LA METILACION EN LA REGIÓN TRANSCRITA DETERMINA LA CAPACIDAD DE RESPUESTA A ESTIMULO DE LOS GENES DE *ARABIDOPSIS THALIANA*** (Gene Body Methylation Is A Key Factor For Regulation Of Gene Expression In *Arabidopsis Thaliana*) **Aceituno, F<sup>1</sup>**, Gutierrez, R<sup>1</sup>. Departamento Genética Molecular y Microbiología, Fac De Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile<sup>1</sup>.
- 16:00 **CARACTERIZACIÓN DE TRES GENES MADS-BOX RELACIONADOS CON EL DESARROLLO FLORAL EN *VITIS VINIFERA*** (Characterization of three flowering related MADS-box genes in *Vitis vinifera*) **Poupin, M<sup>1</sup>**, Federici, F<sup>2</sup>, Timmermann, T<sup>2</sup>, Matus, T<sup>2</sup>, Medina, C<sup>2</sup>, Arce-Johnson, P<sup>2</sup>. Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología<sup>1</sup>, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>.
- 16:15 **GLUTAREDOXINA C9 COMO GEN MODELO DE ESTUDIO DE LA RESPUESTA TEMPRANA A ÁCIDO SALICÍLICO EN *ARABIDOPSIS THALIANA*. DEPENDENCIA DE NPR1, ANÁLISIS DE PROMOTOR Y RESPUESTA A INFECCIÓN POR PATÓGENO** (Glutaredoxin c9 as a model gene for the study of the early response to salicylic acid in *Arabidopsis thaliana*. npr1 dependence, promoter analysis and pathogen infection response) **Blanco, F<sup>1</sup>**, Cechinni, N<sup>2</sup>, Salinas, P<sup>1</sup>, Alvarez, M<sup>2</sup>, Holuigue, M<sup>1</sup>. Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.<sup>1</sup>, CIQUIBIC, Universidad de Córdoba, Córdoba, Argentina.<sup>2</sup>
- 16:30 **CAMBIOS EN EXPRESIÓN GÉNICA EN FRUTOS DE VID EN RESPUESTA A LA INFECCIÓN VIRAL DURANTE EL PROCESO DE MADURACIÓN** (Change in gene expression in response to viral infection affects ripening in grape berries) **Vega, A<sup>1</sup>**, Medina, C<sup>1</sup>, Arce-Johnson, P<sup>1</sup>. Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.
- 16:45 **REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GEN *SDH2-3* EN SEMILLAS DE *ARABIDOPSIS THALIANA*. ESTUDIOS DE UNIÓN DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN AL PROMOTOR** (Regulation of *SDH2-3* expression in *Arabidopsis thaliana* seeds. Binding Studies of transcription factors to the promoter) **Roschztardt, H<sup>1</sup>**, Vásquez, M<sup>1</sup>, Gómez, I<sup>1</sup>, Alonso, R<sup>2</sup>, Vicente-Carbajosa, J<sup>2</sup>, Araya, A<sup>3</sup>, Jordana, X<sup>1</sup>. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Dpto. de Biotecnología-UPM, E.T.S.I. Agrónomos, Madrid 28040, España<sup>2</sup>, Laboratoire de Réplication et Expression des Genes Eucaryotes et Rétroviraux, UMR 5097, CNRS et Université Victor Segalen-Bordeaux II, 33076 Bordeaux-Cedex, Francia<sup>3</sup>.

17:00-17:30 CAFÉ

17:30-18:45 CONFERENCIA III  
Sala A

**ROLE OF AUTOPHAGY IN VIRAL ANTIGEN PRESENTATION BY CLASS II MHC MOLECULES.** Münz, Christian. Laboratory of Viral Immunobiology, The Rockefeller University, New York, NY 10021.

Presenta: Alexis Kalergis

18:45-21:00 PANELES 1-78

PANELES 1-19: Estructura y función de proteínas, Bioinformática, Enzimas

PANELES 20-37: Expresión génica, bioquímica y proteómica de plantas

PANELES 38-49: Expresión génica, Señalización celular

PANELES 50-65: Microbiología

PANELES 66-78: Genética Molecular, Biomedicina, Inmunología, Otros

21:00-22:00 CENA

## JUEVES 27 DE SEPTIEMBRE

9:00-11:00

### SIMPOSIO III Sala A

#### NÚCLEO MILENIO EN INMUNOLOGÍA E INMUNOTERAPIA: MODULACIÓN MOLECULAR DEL SISTEMA INMUNE CON FINES BIOMÉDICOS

Coordinador: Alexis Kalergis

- 09:00 **MODULACIÓN EX VIVO MEDIANTE FACTORES MOLECULARES DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO PARA TERAPIA CELULAR** (x vivo modulation of the immune system by molecular factors for cell therapy) **Salazar Onfray, F<sup>1</sup>**. Facultad de Medicina, UNIVERSIDAD DE CHILE<sup>1</sup>. Patrocinante: Kalergis, A.
- 09:30 **MECHANISM AND REGULATION OF IMMUNOGLOBULIN CLASS SWITCH RECOMBINATION** (Mechanism and Regulation of Immunoglobulin Class Switch Recombination) **Vuong, B<sup>1</sup>**, **Kabir, S<sup>1</sup>**, **Lee, M<sup>1</sup>**, **Chaudhuri, J<sup>1</sup>**. Immunology Program, Sloan Kettering Institute for Cancer Research, New York, NY 10021<sup>1</sup>.
- 10:00 **MODULACIÓN MOLECULAR DE LA SINAPSIS INMUNOLÓGICA PARA ELIMINAR PATÓGENOS Y PREVENIR AUTOINMUNIDAD.** (Modulation of Dendritic Cell function to enhance Pathogen immunity and reduce Autoimmunity.) **Kalergis, A<sup>1</sup>**. Núcleo Milenio en Inmunología e Inmunoterapia. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.
- 10:30 **DESARROLLO Y APLICACIÓN DE ANTICUERPOS TERAPÉUTICOS RECOMBINANTES EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES** (Development and application of recombinant therapeutic antibodies for the treatment of autoimmune diseases) **Aguillón, J<sup>1</sup>**, **Cuchacovich, M<sup>2</sup>**. Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile<sup>1</sup>, Sección de Reumatología, Hospital Clínico Universidad de Chile<sup>2</sup>.

11:00-11:30 CAFÉ

11:30-12:45

### CONFERENCIA PABMB Sala A

#### STRUCTURE, KINETIC STUDIES AND INHIBITOR DESIGN IN PARASITIC INFECTIOUS DISEASES

(Structure, kinetic studies and inhibitor design in parasitic infectious diseases) **Oliva, Glaucius<sup>1</sup>**, **Guido, R<sup>1</sup>**, **Balliano, T<sup>1</sup>**, **Andricopulo, A<sup>1</sup>**, **Thiemann, O<sup>1</sup>**, **Castilho, M<sup>2</sup>**, **Garratt, R<sup>1</sup>**, **Vieira, P<sup>3</sup>**, **Pupo, M<sup>4</sup>**, **Fernandes, J<sup>3</sup>**, **Silva, M<sup>3</sup>**, **Correa, A<sup>3</sup>**. Center for Structural Molecular Biotechnology, Institute of Physics of Sao Carlos, University of Sao Paulo, Sao Carlos, Brazil <sup>1</sup>, Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia<sup>2</sup>, Department of Chemistry, Federal University of Sao Carlos<sup>3</sup>, Faculty of Pharmaceutical Sciences of Ribeirao Preto, University of Sao Paulo <sup>4</sup>.

Presenta: José Martínez-Oyanedel

13:00-14:30 ALMUERZO

14:30-17:00

COMUNICACIONES LIBRES III

Sala A

EXPRESIÓN GÉNICA, SEÑALIZACIÓN CELULAR

Presidente: María Inés Becker

Secretaria: Soraya Gutiérrez

- 14:30 **ANÁLISIS MEDIANTE SAGE DEL TRANSCRIPTOMA INVOLUCRADO EN EL PATTERNING DORSOVENTRAL DEL EMBRIÓN DE *XENOPUS*** (SAGE analysis of the transcriptome involved in dorsoventral patterning of *Xenopus* embryos) **Faunes, F<sup>1</sup>**, Vergara, I<sup>2</sup>, Castellanos, J<sup>2</sup>, Melo, F<sup>2</sup>, Larrain, J<sup>1</sup>. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Departamento de Microbiología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>.
- 14:45 **LA DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS CACO-2 DESENCADENA UN REEMPLAZO DE GLUTATIÓN POR VITAMINA C PARA LA DEFENSA ANTIOXIDANTE, INCLUYENDO LA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DE SVCT1** (Caco-2 Cell Differentiation Triggers a Glutathione to Vitamin C Replacement in Antioxidant Defense, Including SVCT1 Transcriptional Regulation.) **Villagrán, M<sup>1</sup>**, Maldonado, M<sup>1</sup>, Hechenleitner, M<sup>1</sup>, Soliz, C<sup>1</sup>, Guzmán, P<sup>1</sup>, Barra, V<sup>1</sup>, Zúñiga, F<sup>1</sup>, Vera, JC<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>. Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Antioxidantes<sup>1</sup>.
- 15:00 **EL DOMINIO DE TRANSACTIVACIÓN DE RUNX NO ES NECESARIO PARA LA INTERACCIÓN CON CEBPB** (The transactivation domain of Runx is not necessary for the interaction with CEBPb) **Bruna, C<sup>1</sup>**, Marcellini, S<sup>1</sup>, Olate, J<sup>1</sup>, Montecino, M<sup>1</sup>. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.<sup>1</sup>
- 15:15 **LOS SITIOS DE UNIÓN A RUNX PRESENTES EN EL INTRON 5 DEL GEN RUNX1 SON SITIOS FUNCIONALES** (RUNX Binding motif within intron 5 of RUNX1 gene are functional) **Hinojosa, M<sup>1</sup>**, Stuardo, M<sup>1</sup>, Martínez, M<sup>1</sup>, Rebolledo, B<sup>1</sup>, Vergara, V<sup>1</sup>, Gutiérrez, S<sup>1</sup>. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.
- 15:30 **SP1 PARTICIPA EN LA REPRESIÓN DE LA ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL DEL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS 1 POR D-GLUCOSA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO** (Sp1 participates in the repression of the transcriptional activity of equilibrative nucleoside transporter 1 by D-glucose in human foetal endothelium) **Puebla, C<sup>1</sup>**, Fariás, M<sup>1</sup>, Casanello, P<sup>1</sup>, Sobrevía, L<sup>1</sup>. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular y Laboratorio de Investigación en Perinatología, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>. Patrocinante: López-Lastra, M.
- 15:45 **EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN DEPENDIENTE DE COBRE ACE1 DE *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM* ACTIVA LA TRANSCRIPCIÓN DEL GEN *MCO1*** (The copper-dependent ACE1 transcription factor from *Phanerochaete chrysosporium* activates the transcription of the *MCO1* gene) **Canessa, P<sup>1</sup>**, Alvarez, J<sup>1</sup>, Bull, P<sup>1</sup>, Vicuna, R<sup>1</sup>. Dep. de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

- 16:00 **CLONAMIENTO PARCIAL DE DOS SECUENCIAS CDNA DE LA HEMOCIANINA DEL GASTRÓPODO CHILENO CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS Y LOCALIZACIÓN DEL ÓRGANO RESPONSABLE DE SU BIOSÍNTESIS** (Partial cloning of two cDNA sequences of hemocyanin from Chilean gastropod Concholepas concholepas and localization of the organ responsible of its biosynthesis.) **Manubens, A<sup>1</sup>**, Haussmann, D<sup>2</sup>, Fuentes, A<sup>1</sup>, Figueroa, J<sup>2</sup>, Huaquin, L<sup>3</sup>, Martínez, J<sup>1</sup>, De Ioannes, A<sup>1</sup>, Venegas, A<sup>4</sup>, De Ioannes, P<sup>5</sup>, Becker, M<sup>5</sup>. Depto. I&D, Biosonda S.A<sup>1</sup>, Instituto de Bioquímica, U. Austral<sup>2</sup>, Depto. Ciencias Biol. Animales, U. Chile<sup>3</sup>, Depto. Genética Molecular y Microbiol. Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica<sup>4</sup>, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Santiago Chile<sup>5</sup>.
- 16:15 **CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE UNA SUBUNIDAD BETA1 DEL CANAL MAXI-K A LA CUAL SE LE ADICIONÓ EL EPITOPE 3XFLAG EN EL EXTREMO C-TERMINAL** (Functional Characterization of MaxiK Channel beta1 subunit tagged with 3xFLAG epitope at its C-terminus.) **Morera, F<sup>1</sup>**, Alioua, A<sup>2</sup>, Kundu, P<sup>2</sup>, Stefani, E<sup>2</sup>, Toro, L<sup>2</sup>, Latorre, R<sup>3</sup>. Universidad Austral de Chile y Centro de Estudios Científicos<sup>1</sup>, Department Anesthesiology, University of California Los Angeles<sup>2</sup>, Centro de Estudios Científicos<sup>3</sup>.
- 16:30 **HRIC-8B ACTUA COMO GEF PARA GALPHAS *IN VIVO*** (hRIC-8B acts as a GEF for Gs  $\alpha$  *in vivo*) **Pasten, P<sup>1</sup>**, Figueroa, M<sup>1</sup>, Olate, J<sup>1</sup>, Hinrichs, M<sup>1</sup>. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.
- 16:45 **INTERACCIÓN DEL RECEPTOR CLÁSICO DE PROGESTERONA DE OVOCITOS DE XENOPUS LAEVIS CON G $\beta\gamma$**  (The classical progesterone receptor of oocytes *Xenopus laevis* interacts with G $\beta\gamma$ ) **Martinez, S<sup>1</sup>**, Montecino, M<sup>1</sup>, Hinrichs, M<sup>1</sup>, Olate, J<sup>1</sup>. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica<sup>1</sup>.

14:30-17:00

## COMUNICACIONES LIBRES IV

Sala 1

## MICROBIOLOGÍA

Presidenta: Rosalba Lagos

Secretario: Michael Seeger

- 14:30 **IDENTIFICACIÓN DE UN INHIBIDOR TRADUCCIONAL DEL IRES DE HIV-1**. (Identification of a Translational inhibitor of HIV-1 IRES activity) **Rivas, A<sup>1</sup>**, Rodriguez, F<sup>2</sup>, Voilrath, V<sup>1</sup>, Huidobro-Toro, J<sup>2</sup>, López-Lastra, M<sup>3</sup>, López-Lastra, M<sup>1</sup>. Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>, Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>3</sup>.
- 14:45 **BTUE DE *E. COLI*, UN DETERMINANTE DE RESISTENCIA FRENTE AL ESTRÉS OXIDATIVO GENERADO POR TELURITO DE POTASIO**. (*E. coli* *btuE*, a resistance determinant against potassium tellurite-generated oxidative stress.) **Arenas, F<sup>1</sup>**, Perez, J<sup>1</sup>, Sandoval, J<sup>1</sup>, Covarrubias, P<sup>1</sup>, Vasquez, C<sup>1</sup>. Laboratorio Microbiología Molecular, Departamento de Biología, Facultad Química y Biología, USACH.<sup>1</sup>
- 15:00 **PARTICIPACIÓN DE RPOS DE *SALMONELLA TYPHI* EN LA RESPUESTA A ESTRÉS** (The RpoS factor of *Salmonella Typhi* in the stress response.) **Castillo, M<sup>1</sup>**, Castro, D<sup>2</sup>, Retamal, P<sup>2</sup>, Fuentes, J<sup>2</sup>, Mora, G<sup>3</sup>. Universidad Andrés Bello, Becario CONICYT<sup>1</sup>, Pontificia Universidad Católica de Chile, Becarios PUC<sup>2</sup>, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello<sup>3</sup>.

- 15:15 **EFFECTO CITOTÓXICO DE LA MUTANTE Q8H DE LA MICROCINA E492 SOBRE LÍNEAS TUMORALES MURINA Y HUMANAS** (Cytotoxic effect of Q8H microcin E492 mutant on murine and human tumoral cell lines) **García, V<sup>1</sup>**, Soto, C<sup>2</sup>, Monasterio, O<sup>1</sup>, Lagos, R<sup>1</sup>. 1Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>; 1Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile; 2University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA<sup>2</sup>.
- 15:30 **ANÁLISIS GENÉTICO DEL CATABOLISMO DE HIDROXIFENILACETATOS EN CUPRIAVIDUS NECATOR JMP134: IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS GENES QUE CODIFICAN POR MONOOXIGENASAS DE COMPUESTOS AROMÁTICOS** (Genetic analysis of hydroxyphenylacetate catabolism in *Cupriavidus necator* JMP134: Identification of new genes coding for monooxygenases of aromatic compounds) **Pérez-Pantoja, D<sup>1</sup>**, González, B<sup>1</sup>. Depto. Genética Molecular y Microbiología, P. Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.
- 15:45 **PARTICIPACIÓN DE DOS POSIBLES TIOSULFATO QUINONA OXIDOREDUCTASAS EN EL METABOLISMO OXIDATIVO DEL TIOSULFATO DE ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS.** (Participation of two putative thiosulfate quinone oxidoreductases in the oxidative thiosulfate metabolism of *Acidithiobacillus ferrooxidans*) **Valenzuela, L<sup>1</sup>**, Jerez, C<sup>1</sup>. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología, Instituto Milenio ICDB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>.
- 16:00 **PREDICCIÓN BIOINFORMÁTICA PRECISA REVELA INESTABILIDAD DE MÚLTIPLES ISLAS GENÓMICAS EN EL GENOMA DE BRUCELLA** (Accurate bioinformatic prediction reveals instability of multiple genomic islands in *Brucella* genome) **Mancilla, M<sup>1</sup>**, Lopez-Goni, I<sup>2</sup>, Zárraga, A<sup>1</sup>. Universidad Austral de Chile<sup>1</sup>, Universidad de Navarra<sup>2</sup>.
- 16:15 **PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD TELURITO REDUCTASA DE UNA CEPA SILVESTRE DE AEROMONAS SPP.** (Purification and characterization of a tellurite reductase from a wild strain of *Aeromonas spp.*) **Castro, M<sup>1</sup>**, Molina, R<sup>1</sup>, Vasquez, C<sup>1</sup>. Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, USACH<sup>1</sup>.
- 16:30 **EFICIENCIA TRADUCCIONAL DE IRES DE HCV AISLADOS DE PLASMA DE PACIENTES CRÓNICAMENTE INFECTADOS** (Translation efficiencies of HCV IRESes isolated from plasma samples of chronically infected patients) **Barría-Cárcamo, M<sup>1</sup>**, Vera-Otarola, J<sup>1</sup>, León, U<sup>1</sup>, Vollrath, V<sup>1</sup>, Soza, A<sup>2</sup>, López-Lastra, M<sup>1</sup>. Lab Virología Molecular<sup>1</sup> y Depto de Gastroenterología<sup>2</sup>, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- 16:45 **SELECCIÓN GENÉTICA DE HCV LE CONFIERE CAPACIDAD DE PERSISTIR EN PBMC** (Genetic selection from HCV confer capacity to persist in PBMC) **Vera-Otarola, J<sup>1</sup>**, León, U<sup>2</sup>, Barría-Cárcamo, M<sup>2</sup>, Marsac, D<sup>2</sup>, Vollrath, V<sup>1</sup>, Soza, A<sup>3</sup>, López-Lastra, M<sup>2</sup>. Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>3</sup>.

17:00-17:30 CAFÉ

17:30-18:45

CONFERENCIA V  
Sala A

**NEURONAL RECEPTORS FOR SOLUBLE OLIGOMERS OF THE AMYLOID-BETA PEPTIDE AND THE MOLECULAR ETIOLOGY OF ALZHEIMERS DISEASE.** **Ferreira, Sergio.** Institute of Medical Biochemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ 21941-590, Brazil.

19:00-21:00

Presenta: Nivaldo Inestrosa  
**SIMPOSIO IV**  
Sala A

**BACTERIA UNDER STRESS**  
Coordinador: Claudio Vásquez

19:00 **EXPLICACIONES MOLECULARES PARA LA TOXICIDAD DEL OXÍGENO** (Molecular explanations for the toxicity of oxygen) Imlay, J<sup>1</sup>. Department of Microbiology, University of Illinois, Urbana, IL 61801, USA<sup>1</sup>.

19:30 **MECANISMOS DE RESISTENCIA A COBRE EN BACTERIAS Y ARQUEAS QUE VIVEN EN CONCENTRACIONES EXTREMADAMENTE ALTAS DE METALES** (Copper resistance mechanisms of bacteria and archaea living under extremely high concentrations of metals) Navarro, C<sup>1</sup>., Orrell, A<sup>1</sup>., Remonsellez, F<sup>1</sup>., Lagos, A<sup>1</sup>., Jerez, C<sup>1</sup>.. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias e Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile.<sup>1</sup>

20:00 **RESPUESTAS DE ESTRÉS DEL DEGRADADOR DE PCBS A COMPUESTOS AROMÁTICOS BURKHOLDERIA XENOVORANS LB400** (Stress responses of the PCB-degrader *Burkholderia xenovorans* LB400 to aromatic compounds) Seeger, M<sup>1</sup>., Agullo, L<sup>1</sup>., Martínez, P<sup>1</sup>., Camara, B<sup>1</sup>., Latorre, V<sup>1</sup>.. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Millennium Nucleus of Microbial Ecology and Environmental Microbiology and Biotechnology, Universidad Técnica<sup>1</sup>.

20:30 **SOBRE EL MECANISMO DE LA TOXICIDAD DEL TELURITO PARA LAS BACTERIAS** (On the mechanism of bacterial tellurite toxicity) Perez, J<sup>1</sup>., Calderon, I<sup>1</sup>., Fuentes, D<sup>1</sup>., Arenas, F<sup>1</sup>., Castro, M<sup>1</sup>., Sandoval, J<sup>1</sup>., Vasquez, C<sup>1</sup>.. Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CHILE<sup>1</sup>.

21:00 **HOMENAJE A LOS PRESIDENTES ANTERIORES DE LA SOCIEDAD**  
CENA  
FIESTA

**VIERNES 28 DE SEPTIEMBRE**

10:00-12:00

**COMUNICACIONES LIBRES V**  
Sala A

**BIOINFORMÁTICA, ENZIMAS**  
Presidente: Nelson Carvajal  
Secretario: Danilo González

10:00 **OPTIMIZACIÓN DE ALGORITMOS DE PREDICCIÓN PARA SEGMENTOS TRANSMEMBRANA Y CONSTRUCCIÓN DE MODELOS TRIDIMENSIONALES EN PROTEÍNAS PERTENECIENTES A LA SUPERFAMILIA DE FACILITADORES PRINCIPALES** (Algorithm optimization for prediction of transmembrane segments and 3D modeling of proteins of the major facilitator superfamily) Salas-Burgos, A<sup>1</sup>., Zuñiga, F<sup>1</sup>., Ormazabal, V<sup>1</sup>., Aylwin, C<sup>1</sup>., Rivas, C<sup>1</sup>., Vera, J<sup>1</sup>. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

- 10:15 **CAVIDAD INTRACELULAR DEL CANAL DE K<sup>+</sup> HSLO: ROL DE RESIDUOS HIDROFÓBICOS EN LA CONDUCTANCIA DE IONES K<sup>+</sup>** (Intracellular hSlo channels vestibule: Critical role of hydrophobic residues in the K<sup>+</sup> ions conductance) **Vidal, M<sup>1</sup>**, Urbina, H<sup>2</sup>, González, W<sup>2</sup>, Carvacho, I<sup>3</sup>, Latorre, R<sup>4</sup>, Gonzáles-Niño, F<sup>2</sup>. Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca. Universidad Austral de Chile, Valdivia<sup>1</sup>, Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca<sup>2</sup>, Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo 514, Valdivia y Universidad Austral de Chile, Valdivia.<sup>3</sup>, Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo 514, Valdivia.<sup>4</sup>.
- 10:30 **VISUALDEP: UNA HERRAMIENTA PARA VISUALIZAR DIFERENCIAS ELECTROESTÁTICAS ENTE DOS ESTADOS DE UNA PROTEÍNA, APLICADO A ARGINASA Y FICOBILIPROTEINAS** (VisualDEP: a tool for the visualization of electrostatics differences between two state of a protein, applied to Arginase and Phycobiliproteins.) **Jaña-Pérez, N<sup>1</sup>**, Bunster, M<sup>1</sup>, Martínez-Oyanedel, J<sup>1</sup>. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.
- 10:45 **MUTACIONES EN EL SITIO ACTIVO DE LA AGMATINASA DE *ESCHERICHIA COLI*: GENERACIÓN DE ESPECIES QUIMÉRICAS** (Mutations in the active site of *Escherichia coli* agmatinase: chimeric species) **Orellana, M<sup>1</sup>**, Mella, C<sup>1</sup>, Uribe, E<sup>1</sup>, Carvajal, N<sup>1</sup>. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.
- 11:00 **CONTROL DEL FLUJO EN LA SÍNTESIS DE GLICÓGENO: HEXOQUINASA VERSUS GLICÓGENO SINTASA** (Flux control in glycogen synthesis: hexokinase versus glycogen synthase) **Wilson, C<sup>1</sup>**, Preller, A<sup>1</sup>, Ureta, T<sup>1</sup>. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>.
- 11:15 **IMPORTANCIA DE LA ARGININA-308 EN LAS PROPIEDADES CINÉTICAS Y EL ESTADO DE OLIGOMERIZACIÓN DE LA ARGINASA HUMANA TIPO I** (Importance of Arg-308 in the kinetic properties and oligomeric state of human arginase I) **Uribe, E<sup>1</sup>**, Melo, L<sup>1</sup>, Enriquez, S<sup>1</sup>, Orellana, M<sup>1</sup>, García, D<sup>1</sup>, Carvajal, N<sup>1</sup>. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.
- 11:30 **ESTUDIO DE CARACTERÍSTICAS ENERGÉTICAS EN ZONAS DE INTERACCIÓN PROTEÍNA-PROTEÍNA PARA IDENTIFICAR INTERACCIONES TRANSITORIAS Y PERMANENTES** (Study of the energetic characteristics in protein-protein interaction interfaces to identifying transient and obligate protein-protein complexes) **Gutiérrez, T<sup>1</sup>**, Martínez-Oyanedel, J<sup>2</sup>, Bunster, M<sup>2</sup>, Rueda, L<sup>1</sup>. Depto. de Informática. Facultad de Ingeniería. Universidad de Concepción<sup>1</sup>, Depto. Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción<sup>2</sup>.
- 11:45 **POTENCIALES ESTADÍSTICOS PARA LA EXTRACCIÓN DE INFORMACIÓN RELEVANTE A PARTIR DE LA GRAN ABUNDANCIA Y REDUNDANCIA DE DATOS EXISTENTES** (Statistical Potentials For Relevant Information Extraction From The Currently Abundant And Redundant Databases) Slater, A<sup>1</sup>, Norambuena, T<sup>1</sup>, Martínez, P<sup>1</sup>, Pérez, N<sup>1</sup>, Echague, A<sup>1</sup>, Castellanos, J<sup>1</sup>, Panjkovich, A<sup>1</sup>, Ferrada, E<sup>1</sup>, **Melo, F<sup>1</sup>**. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>1</sup>

10:00-12:00

COMUNICACIONES LIBRES VI

Sala 1

**GENÉTICA MOLECULAR, BIOMEDICINA, INMUNOLOGÍA**

Presidenta: Amalia Sapag

Secretaria: Pilar Carvalho

- 10:00 **ANÁLISIS GENÉTICO EN TUMORES DESMOIDES DE PACIENTES CON POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR.** (Genetic analysis in desmoid tumors from patients with familial adenomatous polyposis) **Alvarez, K<sup>2</sup>**, De la Fuente, M<sup>3</sup>, Wielandt, A<sup>2</sup>, Hevia, M<sup>3</sup>, Orellana, P<sup>3</sup>, Oyarzo, M<sup>4</sup>, Lopez-K, F<sup>2</sup>, Carvalho, P<sup>3</sup>. Depto de Cirugía Digestiva, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Unidad de Coloproctología, Clínica Las Condes, Santiago-Chile<sup>2</sup>, Depto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas<sup>3</sup>, Depto. Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>4</sup>.
- 10:15 **PANEL DE MUTACIONES DEL GEN DEL RECEPTOR DEL LDL EN PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR** (Panel of Mutations in LDL receptor gene in Familial Hypercholesterolemia patients) **Gonzalez, F<sup>1</sup>**. Laboratorio de Biología y Genética Molecular, Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso<sup>1</sup>. Patrocinante: Carvalho, P.
- 10:30 **GENES DE HERENCIA MATERNA QUE CODIFICAN SUBUNIDADES DEL COMPLEJO I MITOCONDRIAL SON DIFERENTES EN RATAS ABSTEMIAS Y BEBEDORAS DE ALCOHOL** (Maternally inherited genes encoding mitochondrial complex I subunits are different in alcohol nondrinker and drinker rats) **González-Martínez, G<sup>1</sup>**, Sapag, A<sup>1</sup>, Encina, G<sup>1</sup>, Lobos-González, L<sup>1</sup>, Quintanilla, M<sup>2</sup>, Tampier, L<sup>2</sup>, Israel, Y<sup>3</sup>. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Depto. de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas<sup>1</sup>, Laboratorio de Farmacogenética del Alcoholismo, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina<sup>2</sup>, Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Depto. de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Universidad de Chile<sup>3</sup>.
- 10:45 **DELECIÓN DE GENES SUPRESORES DE TUMOR EN CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO: ANÁLISIS POR MICROARREGLOS DE DNA** (Loss of tumor supresor genes in hereditary breast cancer: a DNA microarray analysis) **Alvarez, C<sup>1</sup>**, Solis, M<sup>2</sup>, Corvalán, A<sup>2</sup>, Alvarez, M<sup>2</sup>, Rozemblum, E<sup>3</sup>, Munroe, D<sup>3</sup>, Carvalho, P<sup>1</sup>. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>, Laboratory of Molecular Technology, SAIC-Frederick Inc., NCI, National Institutes of Health, Frederick, MD, USA<sup>3</sup>.
- 11:00 **PARTICIPACIÓN DE CÉLULAS NATURAL KILLER EN EL EFECTO INMUNOESTIMULANTE DE HEMOCIANINAS** (Participation of Natural Killer cells in the immunostimulatory effect of hemocyanins) **Lagos, L<sup>1</sup>**, del Campo, M<sup>1</sup>, Manubens, A<sup>1</sup>, Molledo, B<sup>2</sup>, De Ioannes, A<sup>1</sup>, Puente, J<sup>3</sup>, Becker, M<sup>2</sup>. Departamento de Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A.<sup>1</sup>, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.<sup>2</sup>, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de Chile<sup>3</sup>.
- 11:15 **LA POTENCIACIÓN EN LA PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS BACTERIANOS INDUCIDA POR COMPLEJOS INMUNES REQUIERE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR FCGAMMARIII EN CÉLULAS DENDRÍTICAS** (Immune complex-induced enhancement of bacterial antigen presentation requires FcgammaRIII expression on dendritic cells) **Contreras, F<sup>1</sup>**, Herrada, A<sup>1</sup>, Tobar, J<sup>1</sup>, Pacheco, R<sup>1</sup>, Kalergis, A<sup>1</sup>. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.
- 11:30 **GENERACION DE INSULINA EN CÉLULAS INTESTINALES: HACIA UNA TERAPIA GÉNICA PARA LA DIABETES.** (Insulin production by intestinal cells: towards a gene therapy for diabetes.) Encina, G<sup>1</sup>, Israel, Y<sup>1</sup>. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.<sup>1</sup> Patrocinante: Sapag, A.
- 11:45 **COMPLEJIDAD DEL METABOLISMO DE VITAMINA C EN CÉLULAS DE CÁNCER PROSTÁTICO** (Complexity of vitamin C metabolism in prostate cancer cells) **Soliz, C<sup>1</sup>**, Villagran, M<sup>1</sup>, Sotomayor, K<sup>1</sup>, Muñoz, C<sup>1</sup>, Barra, V<sup>1</sup>, Vera, J<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>. Universidad de Concepción, Dpto de Fisiopatología<sup>1</sup>. Patrocinante: Vera, J.

**12:00-12:30 CAFÉ ESPECIAL**

**12:30-13:00**

**Entrega MEDALLA HERMANN NIEMEYER  
Sala A**

**13:00-14:00**

**CONFERENCIA OSVALDO CORI  
Sala A**

**UN VIAJE JUNTO A LAS PLANTAS: ENZIMAS, SISTEMAS E INTERACCIONES** (A trip together with plants: enzymes, systems and interactions) **Pérez, Luz María**<sup>1</sup>. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello<sup>1</sup>.

**14:00: Entrega de los premios FERMELO al Trabajo de Incorporación y a la comunicación libre seleccionados.**

# *Conferencias*

## CONFERENCIA INAUGURAL

**ACOPLAMIENTO DE LA TRANSCRIPCIÓN Y EL SPLICING ALTERNATIVO**

(Coupling of transcription and alternative splicing) Muñoz, M<sup>1</sup>, de la Mata, M<sup>1</sup>, Schor, I<sup>1</sup>, Pérez-Santángelo, S<sup>1</sup>, Rascován, N<sup>1</sup>, Fededa, J<sup>1</sup>, Petrillo, E<sup>1</sup>, Alló, M<sup>1</sup>, Kornblihtt, A<sup>1</sup>. LFBM, IFIBYNE-CONICET, FCEN, Universidad de Buenos Aires. Argentina<sup>1</sup>.

Two independent mechanisms contribute to the coupling between transcription and alternative pre-mRNA splicing (AS). On one hand changes in RNA polymerase II (Pol II) elongation rates affect the timing at which nascent pre-mRNA splice sites are presented to the spliceosome (kinetic coupling). On the other hand, interaction of splicing factors with the polymerase molecule itself or with transcription factors and/or coactivators has been reported to affect AS (recruitment coupling). Although the Pol II carboxy terminal domain (CTD) participates in other mRNA processing events, its role in AS remains obscure. To study this we developed an inducible AS reporter minigene so as to tightly restrict its transcription to ectopically expressed wt and CTD-deleted polymerases in conditions in which the endogenous polymerase is inhibited in the transfected cells. Deletion of the CTD provokes higher inclusion of the fibronectin EDI alternative exon, similarly to what is observed when transcription is carried out by a slow Pol II mutant. However, whereas the slow polymerase acts via kinetic coupling, the CTD-deleted polymerase seems to be unable to recruit the splicing factor SRp20 which acts as an inhibitor of EDI inclusion. Indeed, knockdown of SRp20 by RNAi causes higher EDI inclusion when transcription is driven by the wt or slow polymerases but has no effect when transcription is carried out by the CTD-deleted Pol II. In other series of experiments we investigated global changes in AS that seem to be mediated through its coupling to transcription. We show that UV-irradiation of cells deeply affects AS of many genes through a mechanism that implies inhibition of pol II elongation; and that changes in histone acetylation associated to neuronal plasticity affect AS of a NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule) gene exon whose inclusion is modulated following long term potentiation, suggesting a role in learning and memory.

**ROLE OF AUTOPHAGY IN VIRAL ANTIGEN PRESENTATION BY CLASS II MHC MOLECULES** Münz, C. Laboratory of Viral Immunobiology, The Rockefeller University, New York, NY 10021

Major histocompatibility complex (MHC) class II molecules present products of lysosomal proteolysis to CD4<sup>+</sup> T cells. Although extracellular antigen uptake is considered to be the main source of MHC class II ligands, a few intracellular antigens, including the nuclear antigen 1 of the Epstein Barr Virus, have been described to gain access to MHC class II loading after macroautophagy. However, the general relevance and efficacy of this pathway is still debated. In addressing these questions, we could demonstrate constitutive autophagosome formation in MHC class II positive cells, including dendritic, B and epithelial cells. The autophagosomes continuously fused with multivesicular MHC class II-loading compartments (MIICs). This pathway was of functional relevance, because targeting of the Influenza Matrix Protein 1 (MP1) to autophagosomes via fusion to the autophagosome-associated protein Atg8/LC3 led to strongly enhanced MHC class II presentation to CD4<sup>+</sup> T cell clones. We suggest that macroautophagy constitutively and efficiently delivers cytosolic proteins, like viral antigens, for MHC class II presentation and can be harnessed for improved helper T cell stimulation.

## CONFERENCIA SEVERO OCHOA

**PROLIFERAR O DIFERENCIARSE: UN DELICADO BALANCE DURANTE EL DESARROLLO**

(Divide or differentiate: a fine balance during development) Gutiérrez, C<sup>1</sup>. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049 Madrid<sup>1</sup>.

La serie de eventos que hacen posible que una célula crezca y produzca dos células hijas define el ciclo de división celular, un proceso muy regulado a nivel individual. La multicelularidad ha impuesto niveles de complejidad que inciden en el balance entre proliferación celular, especificación, diferenciación y organogénesis. De hecho, los propios reguladores del ciclo, además de su implicación en el mismo, parecen ser dianas que permiten la coordinación entre división y diferenciación. A diferencia de en animales, la organogénesis en plantas es un proceso post-embrionario y que ocurre de manera continua durante toda la vida de la planta. Para ello, es muy importante mantener un estricto balance entre poblaciones celulares de baja tasa de división, de células progenitoras y de células endoreplicantes. Las transiciones de un estado a otro, muy controladas tanto espacial como temporalmente, son cruciales para una correcta toma de decisiones de identidad celular y rutas de diferenciación. En esta charla se presentará una rápida revisión del estado actual de nuestro conocimiento de los principales reguladores de ciclo celular en plantas (Gutiérrez, 2005). Asimismo, se discutirán aspectos relacionados con la identificación de reguladores que coordinan el potencial de proliferación con la diferenciación celular a través de cambios de la cromatina, en particular modificaciones epigenéticas de las histonas (Caro et al., 2007). Referencias Caro et al. (2007) Nature 447, 213-217. Gutiérrez (2005) Nature Cell Biol. 7, 535-541.

## CONFERENCIA PABMB

**STRUCTURE, KINETIC STUDIES AND INHIBITOR DESIGN IN PARASITIC INFECTIOUS DISEASES**

Oiiva, G<sup>1</sup>, Guido, R<sup>1</sup>, Balliano, T<sup>1</sup>, Andricopulo, A<sup>1</sup>, Thiemann, O<sup>1</sup>, Castilho, M<sup>2</sup>, Garratt, R<sup>1</sup>, Vieira, P<sup>3</sup>, Pupo, M<sup>4</sup>, Fernandes, J<sup>3</sup>, Silva, M<sup>3</sup>, Correa, A<sup>3</sup>. Center for Structural Molecular Biotechnology, Institute of Physics of Sao Carlos, University of Sao Paulo, Sao Carlos, Brazil <sup>1</sup>, Fac of Pharmacy, Federal University of Bahia<sup>2</sup>, Department of Chemistry, Federal University of Sao Carlos<sup>3</sup>, Fac of Pharmaceutical Sciences of Ribeirao Preto, University of Sao Paulo <sup>4</sup>. Infectious diseases continue to impede social and economic progress in the developing countries, disproportionately affecting poor and marginalized populations. Alone, the ten TDR diseases cause 3 million deaths per year and account for the loss of over 90 million DALYs. The currently available chemotherapy is extremely limited, with drugs presenting significant risk due to side effects. In this talk we will present our integrated experimental approach to this goal, which includes cloning and overexpression of parasitic enzymes, their crystallization and X-ray crystallography studies, rational drug design, synthesis and extensive screening and testing of both synthetic and natural products compounds obtained from the Brazilian biodiversity. In the past years, a dozen different proteins from tropical parasites had their structures elucidated in our lab, related to Chagas disease, leishmaniasis, schistosomiasis, sleeping sickness and malaria. Also, in an on-going program to screen natural products libraries in the search for new potential inhibitors, a series of promising compounds were identified and subsequently improved by structure based drug design, QSAR techniques and conventional and combinatorial chemistry. We will conclude by focusing on the enzyme GAPDH from *T. cruzi*, of which we have X-ray structures of ten different crystal forms, including the native holo and apo-enzyme, plus two structures with 1 and 2 NAD-cofactors bound, a double-mutant, and 4 complexes with different inhibitors, which allowed us to conduct detailed analysis of the kinetic mechanism of this enzyme, as well as to plan new specific ligands, potential new leads in the development of antichagasic drugs.

**NEURONAL RECEPTORS FOR SOLUBLE OLIGOMERS OF THE AMYLOID-BETA PEPTIDE AND THE MOLECULAR ETIOLOGY OF ALZHEIMERS DISEASE** (Neuronal Receptors for Soluble Oligomers of the Amyloid- $\beta$  Peptide and the Molecular Etiology of Alzheimers Disease) Ferreira, S<sup>1</sup>. Institute of Medical Biochemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ 21941-590, Brazil.<sup>1</sup>.

Alzheimers disease (AD) is neuropathologically characterized by extracellular amyloid plaques, intracellular neurofibrillary tangles, build-up of soluble oligomers of the amyloid- $\beta$  peptide ( $A\beta$ ), oxidative stress and synapse loss. Accumulating evidence indicates that soluble  $A\beta$  oligomers are the main neurotoxins that cause early synaptic dysfunction, memory loss and, ultimately, neuronal degeneration in AD. However, the mechanisms by which  $A\beta$  oligomers attack neurons are only beginning to be unraveled. There are no effective treatments available for AD and the development of novel therapeutic approaches will critically depend on a detailed understanding of the molecular cellular basis of toxicity, with emphasis on the identification of the receptors that mediate neuronal impact of  $A\beta$ . One of our current research goals is to identify putative neuronal receptors of  $A\beta$  employing phage display of peptide libraries. Using this approach, we have identified a number of candidate neuronal protein receptors that may be involved in neuronal dysfunction and toxicity induced by  $A\beta$ . Proof-of-principle for the validity of this approach was provided by our finding that  $A\beta$  causes functional inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) and that a heptapeptide identified by phage display and corresponding to the  $A\beta$ -binding domain of nAChRs blocks functional inhibition at nanomolar concentrations. More recent studies implicating neuronal glutamate receptors and the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in the neuronal impact of  $A\beta$  will be discussed. These results support the notion that nicotinic and glutamate receptors, as well as the Wnt receptor Frizzled, may be early targets of  $A\beta$ -induced neuronal dysfunction in AD and provide a basis for the rational development of novel therapeutic approaches for this devastating disease.

#### CONFERENCIA OSVALDO CORI

**UN VIAJE JUNTO A LAS PLANTAS: ENZIMAS, SISTEMAS E INTERACCIONES** (A trip together with plants: enzymes, systems and interactions) Pérez, L<sup>1</sup>. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello<sup>1</sup>.

Los tejidos vegetales se caracterizan por sintetizar numerosos compuestos, incluyendo aquellos denominados metabolitos secundarios, los que cumplen funciones muy diversas en las plantas. Este viaje se inicia usando como sistemas vegetales a frutos de *Citrus sinensis* y *Citrus paradisi* en los que se estudia la biosíntesis de mono- y de sesquiterpenos. Continúa con frutos y plantas de cítricos en los que se analizan los mecanismos de interacción y defensa de los tejidos contra microorganismos patógenos, donde la inducción de la vía fenilpropanoide es esencial para la síntesis de la fitoalexina escoparona, metabolito de defensa post-infección que se forma en respuesta al ataque por *Alternaria alternata*. Junto a la vía fenilpropanoide, se analiza el sistema de transducción de señales en plántulas de limonero, para la expresión de genes de defensa involucrados en la síntesis de escoparona y también en la de proteínas de defensa como quitinasas y glucanasas, enzimas que hidrolizan los componentes de la pared celular de fitopatógenos fúngicos. En forma paralela, se establece que hongos del género *Trichoderma* utilizan una estrategia enzimática semejante para controlar el desarrollo de fitopatógenos que afectan el sistema radical del tomate, secretando quitinasas y glucanasas junto a metabolitos con actividad antibiótica, identificados como parte de los mecanismos que utilizan para ejercer el control biológico. Adicionalmente *Trichoderma* es capaz de inducir la expresión de quitinasas y glucanasas en plántulas de tomate, las que colaboran con el biocontrolador en la defensa del tejido vegetal. Financiamiento: DID?U.Chile, FDI-CORFO, FONDECYT, ICGB, IFS, PNUDYNESCO, UNAB.

# *Simposios*

**SIMPOSIO I: EVOLUCIÓN BIOQUÍMICA DE LA NUTRICIÓN: DESDE EL PALEOLÍTICO HASTA EL MONO OBESO**

**¿PORQUE COMEMOS LO QUE COMEMOS?** (Why we eat that we eat?) Campillo Álvarez, J<sup>1</sup>. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Extremadura. Badajoz. España.<sup>1</sup>.

La casi totalidad del genoma humano se formó durante la evolución preagrícola. Las adaptaciones permitieron a la especie humana sobrevivir a las difíciles condiciones ambientales que soportaron en cada etapa de su evolución. A lo largo de millones de años nuestros antecesores fueron desarrollando un genotipo que les permitía adaptaciones musculares y metabólicas para sobrevivir en estas condiciones extremas. A esta especial condición genética adquirida a lo largo de la evolución de la especie humana se le ha denominado *Genotipo ahorrador* o *thrifty genotype*?. Diversos estudios han identificado algunas SNPs (single nucleotide polymorphisms), que constituyen la base de esa condición genética. La mayor parte de estas SNPs afectan a genes que controlan el metabolismo energético y favorecen la acumulación de reservas energéticas en periodos de abundancia y el ahorro de grasa en periodos de escasez. En los individuos portadores del genotipo ahorrador que viven hoy en condiciones naturales, con elevada actividad física y una alimentación natural y no muy abundante, la expresión correcta de su genotipo les confiere ventajas de salud y de supervivencia. En los individuos portadores del genotipo ahorrador que viven en condiciones opulentas con hiperalimentación y sedentarismo sufren una errónea expresión de sus genes y ello favorece el desarrollo del síndrome cardiometabólico y la mortalidad cardiovascular.

**DE LA DIETA A LA EXPRESIÓN GÉNICA: OPORTUNIDADES Y DESAFÍOS EN MICRONUTRIENTES.** (From diet to genic expression: opportunities and challenges in micronutrients.) Suazo R, M<sup>1</sup>. Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>1</sup>.

Los micronutrientes, vitaminas y minerales, son fundamentales en el metabolismo humano. Su deficiencia se ha asociado a múltiples enfermedades, desde malformaciones fetales hasta cáncer. Aunque se han establecido recomendaciones de cada uno de los micronutrientes, la tendencia en la población es hacia una suplementación, especialmente con aquellos micronutrientes asociados al estrés oxidativo como vitaminas A y E. Recientes meta-análisis no han mostrado ningún beneficio de la suplementación con estos micronutrientes, por el contrario, parece existir una asociación entre el consumo de estos suplementos y del incremento de la mortalidad. Una de las dificultades para establecer si efectivamente un individuo se encuentra en riesgo de tener exceso o déficit de un micronutriente, antes de los efectos clínicos, es encontrar los indicadores o biomarcadores adecuados. El cobre es un micronutriente esencial para el cual no hay indicadores que detecten efectos tempranos de la deficiencia o exceso. Nosotros estamos estudiando la expresión de diferentes proteínas asociadas al metabolismo de cobre mediante RT-PCR en tiempo real en las células mononucleares periféricas de individuos suplementados con 8 a 10 mg de cobre diario por 2 a 6 meses. Sólo la chaperona de cobre para superóxido dismutasa cobre-zinc (CCS) ha mostrado cambios significativos frente a la exposición a cobre sin cambios significativos en los niveles plasmáticos de cobre, hierro y zinc. Nuestros resultados sugieren que la expresión de CCS sería un biomarcador del estatus de cobre, que permitiría identificar la transición desde homeostasis a niveles subclínicos del metal. Fondecyt 1030618, International Copper Association 2003-07.

**ACIDOS GRASOS OMEGA-3, UN PARADIGMA BIOQUÍMICO Y NUTRICIONAL** (Omega-3 Fatty Acids, a Nutritional and Biochemical Paradigm) Valenzuela B, A<sup>1</sup>. INTA, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

Los ácidos grasos omega-3, particularmente los de cadena larga de origen marino, constituyen en la actualidad un modelo de estudio y de aplicación nutricional, debido sus particulares efectos benéficos en la salud y nutrición. El ácido eicosapentaenoico (C20:5, omega-3, EPA) tiene efectos hipotriglicéridémicos, hipocolesterolémicos, antiinflamatorios y antitrombóticos, por lo cual se recomienda su suplementación a los individuos con riesgo cardiovascular. El ácido docosahexaenoico (C22:6, omega-3, DHA) es fundamental para el desarrollo y la función del tejido nervioso y visual, y ejerce importantes efectos en la función neuronal como factor antiapoptótico, por lo cual se recomienda su suplementación a las mujeres embarazadas y en lactancia, a los niños, y a los individuos de la tercera edad. Son numerosas las evidencias experimentales, clínicas, y epidemiológicas que demuestran los efectos beneficiosos derivados de la suplementación con ácidos grasos omega-3 de cadena larga. La principal fuente nutricional de estos ácidos grasos son los alimentos de origen marino. Sin embargo, debido al bajo consumo de estos productos por parte de la población de muchos países, incluido Chile, actualmente se recomienda la suplementación de nuestra alimentación con estos ácidos grasos a partir de otras fuentes. Estos se pueden aportar desde diferentes orígenes, formas bioquímicas, y protocolos nutricionales. El presente trabajo resume las propiedades de los ácidos grasos omega-3, sus beneficios nutricionales, y los desarrollos bioquímicos y tecnológicos orientados a mejorar la ingesta de estos ácidos grasos. Financiado por FONDECYT e INNOVA-CORFO.

## SIMPOSIO II: REMODELACIÓN DE CROMATINA Y REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL

**ATP-DEPENDENT CHROMATIN REMODELING COMPLEXES AND NUCLEOSOME EVICTION ON GENE PROMOTERS** (ATP-dependent chromatin remodeling complexes and nucleosome eviction on gene promoters) **Gutierrez, J**<sup>1</sup>. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>. ATP-dependent chromatin remodeling activity has been experimentally observed as several biochemical phenomena, including: transient exposure of nucleosomal DNA; nucleosome sliding; and histone octamer transfer.  $\gamma$  SWI-SNF is able to interact non-specifically with DNA and nucleosomes. This fact implies that this chromatin remodeling complex needs to be targeted to the regions of the genome which comprise the subset of genes influenced by its activity. An increasing amount of data indicates that targeting of  $\gamma$  SWI-SNF and other chromatin remodeling complexes relies principally on transcription factors. In addition to this targeting function, the outcome of the remodeling activity could be affected by the presence of the transcription factor. In vitro nucleosome remodeling assays were carried out in order to study nucleosome sliding as well as octamer transfer activity, focusing on the influence of transcription factors. We have found that the chimeric transcription factor Gal4-VP16 can enhance SWI-SNF histone octamer transfer activity, resulting in targeted histone eviction from a nucleosome probe. This effect is dependent on the presence of the activation domain. We observed that under conditions mimicking the in vivo relative abundance of SWI-SNF with respect to the total number of nucleosomes in a cell nucleus, the accessibility of the transcription factor binding site is the first determinant in the sequence of events leading to nucleosome remodeling. We propose a model mechanism for this transcription factor-mediated enhancement of SWI-SNF octamer transfer activity. Currently, we are studying whether the enhancement of SWI-SNF nucleosome eviction activity by transcription factors is also present in higher.

**SPATIAL CHANGES IN GENE ORGANIZATION AND THE TEMPORAL REGULATION OF MYOGENIC GENE EXPRESSION** (Spatial changes in gene organization and the temporal regulation of myogenic gene expression) **Imbalzano, A**<sup>1</sup>. University of Massachusetts Medical School<sup>1</sup>.

During skeletal muscle differentiation, the myogenic determinant MyoD activates a related transcriptional regulator called myogenin early in the differentiation process. Myogenin, in concert with a specific Mef2 isoform, subsequently activates the myogenic late genes that encode structural and functional proteins needed to form adult skeletal muscle. Chromosome conformation capture (3C) assays reveal that myogenic late genes located on different chromosomes are in close physical proximity in differentiating, but not mock-differentiated or unrelated cells. The interactions are limited to the regulatory sequences controlling gene expression. Ectopic expression of myogenin and the Mef2 isoform induces skeletal muscle differentiation without activating endogenous MyoD expression. Under these conditions, late genes do not physically associate, and are prematurely activated such that their expression profile mirrors that of early myogenic genes. We propose that MyoD-mediated spatial organization of late genes is responsible for restricting late gene expression during the early stages of myogenesis. Potential mechanisms controlling these processes will be discussed.

**CHROMATIN REMODELING AND TRANSCRIPTIONAL ACTIVATION OF BONE-PHENOTYPIC GENES: REGULATION AT EARLY AND LATE STAGES OF OSTEOBLAST DIFFERENTIATION** (Chromatin remodeling and transcriptional activation of bone-phenotypic genes: Regulation at early and late stages of osteoblast differentiation) **Montecino, M**<sup>1</sup>. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

Changes in chromatin organization accompany transcription of bone-phenotypic genes during osteoblast differentiation. These chromatin remodeling events are reflected by increased nuclease accessibility at promoter regulatory sequences and/or by changes in the pattern of post-translational modifications exhibited by the promoter-bound core histone proteins. Reorganization of chromatin can be mediated by chromatin remodeling complexes such as SWI-SNF which alter nucleosomal structure in an ATP-dependent manner and by nuclear complexes that covalently modify the structural components of chromatin (e.g. histone acetyl transferases). We have analyzed the mechanisms that contribute to chromatin remodeling and transcriptional activity of bone-related genes during osteoblast differentiation. Our results indicate that changes in chromatin structure that accompany transcriptional activity of early and late bone-phenotypic genes require targeting of specific nuclear complexes that modify chromatin through different mechanisms.

## SIMPOSIO III NÚCLEO MILENIO EN INMUNOLOGÍA E INMUNOTERAPIA: MODULACIÓN MOLECULAR DEL SISTEMA INMUNE CON FINES BIOMÉDICOS

**MODULACIÓN EX VIVO MEDIANTE FACTORES MOLECULARES DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO PARA TERAPIA CELULAR** (x vivo modulation of the immune system by molecular factors for cell therapy) Salazar Onfray, F<sup>1</sup>. Facultad de Medicina, UNIVERSIDAD DE CHILE<sup>1</sup>. Patrocinante: Kalergis, A.

Dendritic cell (DCs)-based therapy has proven to be effective in patients with a variety of malignancies. A Chilean phase II clinical study for the treatment of advanced malignant melanoma performed in our laboratory, indicates that autologous human dendritic cells (hDCs) pulsed with a melanoma cell lysate acquire a mature phenotype in vitro and were able to trigger specific immune responses to tumor antigens in vivo. In this study, 37 patients with malignant melanoma in stage IV were vaccinated with autologous DCs pulsed with a melanoma cell lysate. After vaccination, 60 % of tested patients (18 out of 37) showed a positive Delayed type IV hypersensitivity reaction (DTH) against the melanoma cell lysate. All patients showed a positive DTH reaction against the used adjuvant KLH demonstrating that all patients were immunocompetent. Significant correlations were found between positive DTH responses against tumour lysate and both disease stability and post-vaccination survival in the stage IV patients. In fact, the mean of post-vaccination survival was 15 months for all the vaccinated patients, double the historical survival for stage IV melanoma patients. More important, positive DTH patients showed a post-vaccination mean survival of 25 months compared to 8 months observed for the negative DTH group of patients. However, there is a group of patients that did not show immunological responses, thus the aim for our study was to evaluate the role of regulatory T cells in this sub-group of patients who did not present immunological responses.

**MODULACIÓN MOLECULAR DE LA SINAPSIS INMUNOLÓGICA PARA ELIMINAR PATÓGENOS Y PREVENIR AUTOINMUNIDAD.**

(Modulation of Dendritic Cell function to enhance Pathogen immunity and reduce Autoimmunity.) Kalergis, A<sup>1</sup>. Núcleo Milenio en Inmunología e Inmunoterapia. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>. Nuestra línea de investigación se concentra en las interacciones moleculares que promueven la formación de la sinapsis inmunológica entre el linfocito T y la célula dendrítica presentadora de antígenos. Dicha sinapsis es esencial para la respuesta inmune responsable de proteger al hospedero contra los agentes patógenos y el crecimiento de tumores. Específicamente, estos estudios apuntan a dilucidar los mecanismos moleculares por los cuales la célula dendrítica controla la activación del linfocito T. Los nuevos conocimientos generados serán aplicados a la optimización de la inmunidad contra agentes infecciosos bacterianos y virales, así como también contra tumores malignos. Además, nuestro laboratorio intenta identificar los mecanismos moleculares desarrollados por los patógenos y las células tumorales para inhibir la formación de la sinapsis inmunológica, con el objeto de evadir la respuesta inmune. Finalmente, el entendimiento de los mecanismos moleculares responsables de la regulación de la sinapsis inmunológica es clave para interferir con la iniciación y desarrollo de enfermedades autoinmunes, tales como la Esclerosis Múltiple, el Lupus Eritematoso Sistémico y la Artritis Reumatoide. En el laboratorio estamos desarrollando estrategias tanto de inmunoterapia como farmacológicas modular la sinapsis inmunológica a fin de evitar el desarrollo de autoinmunidad.

**MECHANISM AND REGULATION OF IMMUNOGLOBULIN CLASS SWITCH RECOMBINATION** (Mechanism and Regulation of Immunoglobulin Class Switch Recombination) Vuong, B<sup>1</sup>., Kabir, S<sup>1</sup>., Lee, M<sup>1</sup>., Chaudhuri, J<sup>1</sup>.. Immunology Program, Sloan Kettering Institute for Cancer Research, New York, NY 10021<sup>1</sup>.

To mount an optimum immune response, mature B lymphocytes undergo two genetic alterations-somatic hypermutation (SHM) and class switch recombination (CSR). The B cell specific enzyme AID (activation induced cytidine deaminase) is essential for both processes. It is thought that AID initiates both reactions by deaminating cytidines on single-strand DNA within transcribed regions of the immunoglobulin (Ig) loci. Components of several DNA repair pathways subsequently process and complete the AID-initiated reaction to effect CSR and SHM. Inactivation of AID leads to hyper-IgM syndromes in humans and mice due to a complete block in the initiation of CSR and SHM. Deregulated expression of AID, on the other hand, converts it into a general mutator and promotes mutations and translocations of oncogenes that have been implicated to give rise to mature B cell lymphomas. We will discuss how transcription allows AID to access the Ig locus and how phosphorylation regulates AID activity and specificity.

**DESARROLLO Y APLICACIÓN DE ANTICUERPOS TERAPÉUTICOS RECOMBINANTES EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES**

(Development and application of recombinant therapeutic antibodies for the treatment of autoimmune diseases) Aguilón, J<sup>1</sup>., Cuchacovich, M<sup>2</sup>.. Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile<sup>1</sup>, Sección de Reumatología, Hospital Clínico Universidad de Chile<sup>2</sup>.

Monoclonal antibodies (mAb) are valuable reagents because they can bind to a variety of ligands with exquisite specificity. The variable domains are responsible for determining the binding specificity of an antibody. Cloning immunoglobulin variable regions cDNAs from hybridomas can serve to design chimeric or other forms of antibodies. Tumor Necrosis Factor (TNF), a pleiotropic cytokine, is involved in autoimmunity, including rheumatoid arthritis (RA). Neutralization of TNF by anti-TNF antibodies is being used as an effective therapeutic tool against RA and other autoimmune diseases, showing important advantages with respect to conventional treatments. In this work, we described a strategy for the construction of a chimeric anti-human TNF antibody (ChTNFab) by cloning the DNAs coding for variable regions of a murine anti-human TNF antibody and its fusion to the DNAs coding for constant regions of human antibodies. Once the ChTNFab was expressed this showed to maintain the biological activity displayed by the original murine monoclonal antibody. In addition, by performing clinical trials, we have investigated the effectiveness of two available anti-TNF mAb, and we have studied the influence of -308 TNF promoter polymorphism and circulating TNF levels in the clinical response to anti-TNF therapy in patients with RA. For these purposes, more than 100 RA patients receiving anti-TNF therapy have been genotyped for the -308 TNF polymorphism (GA and GG genotypes) and their clinical responses (DAS28 and ACR 20) to anti-TNF therapy at 8, 16, and 24 weeks have been compared. Financed by Millennium Nucleus P04030-F, Fondecyt 1070553 and Fondecyt D0311055.

## SIMPOSIO IV: BACTERIAS BAJO ESTRÉS

**EXPLICACIONES MOLECULARES PARA LA TOXICIDAD DEL OXÍGENO** (Molecular explanations for the toxicity of oxygen) Imlay, J<sup>1</sup>. Department of Microbiology, University of Illinois, Urbana, IL 61801, USA<sup>1</sup>. Patrocinante: Vasquez, C.

Oxygen is a reactive chemical that can adversely affect all organisms that dwell in aerobic habitats. This situation poses some fundamental questions: How rapidly are reactive oxygen species formed inside cells? What biomolecules do they most readily damage? How do cells defend themselves? Recent investigations of the model organism *Escherichia coli* have demonstrated that intracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is continuously generated by the autoxidation of its redox enzymes. Scavenging systems are calibrated to maintain H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> far below 1 micromolar—which is critical, because 1 micromolar intracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> substantially increases the rate of mutagenesis, inactivates certain catabolic and biosynthetic enzymes, and disrupts homeostatic controls on intracellular iron levels. These higher levels of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> can be encountered in natural habitats when exogenous reducing compounds react with oxygen, when lactic acid bacteria generate H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to toxify competitors, and when plants and animals activate an oxidative burst to stave off microbial pathogens. The *E. coli* OxyR protein detects any influx of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and activates protective strategies that extend beyond the simple scavenging of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Such defenses are critical: their abrogation greatly exacerbates the growth problems of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-stressed cells. Phylogenetic evidence implies that these results pertain not only to *E. coli* but to most organisms. Supported by grant GM49640 from the National Institutes of Health.

**RESPUESTAS DE ESTRÉS DEL DEGRADADOR DE PCBs A COMPUESTOS AROMÁTICOS BURKHOLDERIA XENOVORANS LB400** (Stress responses of the PCB-degrader *Burkholderia xenovorans* LB400 to aromatic compounds) Seeger, M<sup>1</sup>, Agullo, L<sup>1</sup>, Martínez, P<sup>1</sup>, Camara, B<sup>1</sup>, Latorre, V<sup>1</sup>. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Millennium Nucleus of Microbial Ecology and Environmental Microbiology and Biotechnology, Universidad Técnica<sup>1</sup>.

In the environment, bacteria are faced with many different and constantly changing stresses. *Burkholderia xenovorans* LB400 is a potent aerobic xenobiotic-degrader able to catabolize polychlorobiphenyls (PCBs). The responses of strain LB400 to PCBs and their metabolites were studied. The exposure to PCBs decreases the growth of LB400 and affects cell membranes. Proteome analysis showed that PCBs induce catabolic enzymes of biphenyl metabolic pathways and the molecular chaperones DnaK and GroEL, indicating a stress condition for LB400. Oxidative stress was evidenced by the induction of AhpC. During bacterial degradation of specific PCBs, different metabolic intermediates accumulate. Dihydrodiols and dihydroxybiphenyls decrease drastically the bacterial viability. The exposure to chlorobenzoates (CBAs) does not affect viability, but inhibit the growth of strain LB400. Besides induction of enzymes of benzoate and catechol pathways, CBAs induce the stress proteins DnaK and HtpG. Exposures to PCBs and CBAs increase electron-dense granules (probably polyphosphates), and induce polypeptides involved in energy production. This study contributes to the knowledge on the adaptation of strain LB400 to aromatic compounds. Acknowledgments: FONDECYT 1070507, MILLENNIUM P04007-F and USM 130522.

**MECANISMOS DE RESISTENCIA A COBRE EN BACTERIAS Y ARQUEAS QUE VIVEN EN CONCENTRACIONES EXTREMADAMENTE ALTAS DE METALES.** (Copper resistance mechanisms of bacteria and archaea living under extremely high concentrations of metals) Navarro, C<sup>1</sup>, Orrell, A<sup>1</sup>, Remonsellez, F<sup>1</sup>, Lagos, A<sup>1</sup>, Jerez, C<sup>1</sup>. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias e Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

Copper is an essential element for all living cells. However, at high concentrations is highly toxic due to its capacity to produce reactive oxygen species that generate stress that may become lethal to cells. Extremophiles such as the acidophilic *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Bacteria) and *Sulfolobus metallicus* (Archaea) tolerate Cu (CuSO<sub>4</sub>) concentrations of 800 mM and 200 mM respectively. These microorganisms are important in biomining processes to extract copper and other metals. What mechanisms allow them to be so resistant to Cu? *A. ferrooxidans* grown at low Cu concentrations (5 mM) expressed genes coding for ATPases most likely involved in pumping the metal from the cytoplasm to the periplasm of the bacterium. On the contrary, at 100 mM Cu the previous systems were repressed and there was a great induction in the expression of efflux systems from the RND family, known to use the proton motive force energy to export the metal outside the cell. These results suggest that *A. ferrooxidans* uses different systems to respond to Cu depending on the extracellular concentrations of the metal. One of these systems relates to polyP metabolism. These cells accumulate enormously high levels of polyphosphates (PolyP) and the intracellular Cu concentration stimulates polyP hydrolysis and the resulting Pi would be transported out of the cell in the form of a metal-Pi complex. Furthermore, our results suggest that at high Cu concentrations polyP would also provide energy for the metal efflux. Supported by FONDECYT 1070986, ICM P-05-001-F, CONICYT (CN, FR) and MECESUP (AO) doctoral fellowships.

**SOBRE EL MECANISMO DE LA TOXICIDAD DEL TELURITO PARA LAS BACTERIAS.** (On the mechanism of bacterial tellurite toxicity) Perez, J<sup>1</sup>, Calderon, I<sup>1</sup>, Fuentes, D<sup>1</sup>, Arenas, F<sup>1</sup>, Castro, M<sup>1</sup>, Sandoval, J<sup>1</sup>, Vasquez, C<sup>1</sup>. Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CHILE<sup>1</sup>. The tellurium oxyanion, tellurite (TeO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), is toxic to most forms of life, especially microorganisms. To date, the mechanisms underlying its toxicity are unknown. Previous results from our laboratory allowed hypothesizing that tellurite toxicity is a consequence, at least in part, of the oxidative stress status that is generated during intracellular tellurite reduction. After exposing *Escherichia coli* cells to K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> the synthesis of a 43 kDa protein was highly induced. This protein was identified as the putative oxidoreductase YqhD, whose function, physiological substrate or regulation are not known to date. In this work we studied the participation of YqhD in tellurite resistance in *E. coli*. Results regarding peroxidation products, protein oxidation, TBARS generation and substrate identification of YqhD allowed the speculation that YqhD seems to constitute a GSH-independent antioxidant system that functions specifically against toxic aldehydes generated by membrane peroxidation. YqhD would be part of a new antioxidant system that would be induced specifically under oxidative stress conditions that favor lipid peroxidation. This lipid peroxidation-responsive system would play a major role in the cell's response to highly oxidant compounds that generate ROS as hydrogen peroxide, chromate and potassium tellurite, among others. Supported by Fondecyt (# 1060022) and Dicyt, USACH, grants to C.C.V. MECESUP (J.M.P., D.E.F., J.M.S.) and Conicyt (I.L.C., F.A.A., M.E.C.) doctoral fellowships are also acknowledged.

*Trabajos de  
Incorporación*

**DIABETES GESTACIONAL REPRIME TRANSCRIPCIÓN DEL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS 1 EN ENDOTELIO FETAL HUMANO VIA CHOP-CEBP ALFA Y ÓXIDO NÍTRICO.** (Gestational diabetes represses transcription of equilibrative nucleoside transporter 1 in human fetal endothelium via hCHOP-CEBP alpha and nitric oxide) Farias, M<sup>1</sup>, Puebla, C<sup>1</sup>, Casanello, P<sup>1</sup>, Sobrevia, L<sup>1</sup>. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular y Laboratorio de Investigación en Perinatología, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>1</sup>. Patrocinante: López-Lastra, M.

Diabetes gestacional (DG) reduce la actividad del transportador equilibrativo de nucleósidos 1 (hENT1) en endotelio de vena umbilical humana (HUVEC). Se analizó el rol de óxido nítrico (NO) y el dímero transcripcional hCHOP-CEBP $\alpha$  en la regulación de la expresión de SLC29A1 (para hENT1). La proteína y mRNA para hENT1, la abundancia nuclear de hCHOP y la actividad reportera de constructos pGL3-hENT1 fueron evaluados en HUVEC normales o DG, en ausencia o presencia de L-NAME o SNAP (inhibidor y donante NO) y los vectores de expresión de hCHOP y CEBP $\alpha$ . Se midió la unión de hCHOP al promotor de SLC29A1 (Inmunoprecipitación de cromatina). DG disminuye el nivel de proteína (-60%) y mRNA (-52%) para hENT1, y aumenta la abundancia nuclear de hCHOP (1.32 veces), efectos que requieren producción de NO. La actividad del promotor de SLC29A1 que menor en DG y en HUVEC normales co-transfectadas con hCHOP y CEBP $\alpha$ . La unión de hCHOP al promotor de SLC29A1 fue mayor en DG. De este modo, La reducción de la expresión de hENT1 en DG podría ser explicada por mayores niveles de NO y represión transcripcional via hCHOP-CEBP $\alpha$  en HUVEC aisladas de embarazos con esta patología. MF (CONICYT-PUC), CP (DIPUC-VRAID), FONDECYT 1070865, VRAID BM14-16-2007..

**LA ACTIVIDAD CONSTITUTIVA DE LA SUBUNIDAD ALFA DE LA PROTEÍNA G HETEROTRIMÉRICA PGA1 ALTERA EL FENOTIPO DE *PENICILLIUM ROQUEFORTI* Y ESTIMULA LA PRODUCCIÓN DE LA MICOTOXINA ROQUEFORTINA C.** (Constitutive activity of heterotrimeric G- protein alpha subunit changes *Penicillium roqueforti* phenotype and stimulates roquefortin C production) Chavez, R<sup>1</sup>, Garcia-Rico, R<sup>2</sup>, Vaca, J<sup>3</sup>, Fierro, F<sup>4</sup>, Martin, J<sup>3</sup>. Fac Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile<sup>1</sup>, Fac Ciencias, Universidad de Pamplona, Colombia<sup>2</sup>, Instituto de Biotecnología León, España<sup>3</sup>, Universidad Autónoma Metropolitana, México.<sup>4</sup>. Patrocinante: Eyzaguirre, J.

El gen *pga1* codifica para la subunidad alfa de una GTPasa con efecto pleiotrópico sobre una gran variedad de funciones en distintos hongos, entre ellas crecimiento, conidiación y producción de metabolitos secundarios. Para determinar si este efecto es extensible a *Penicillium roqueforti*, un hongo de gran importancia económica, se transformó la cepa nativa CECT 2905 con la construcción pG42Rb conteniendo el gen *pga1* de *P. chrysogenum* con una mutación sitio-dirigida que mantiene constitutivamente activa a esta subunidad. Se analizó el efecto fenotípico de la actividad constitutiva de *pga1* en los transformantes en distintos medios sólidos, observándose disminución del diámetro de la colonia y represión de la conidiación. Mediciones bioquímicas indican que este efecto se correlaciona con un aumento del AMPc intracelular, aunque esto sólo explica parcialmente el fenotipo, pues el aumento artificial de los niveles de AMPc no produce efectos similares en la conidiación de la cepa nativa. Finalmente, y usando un transformante estable, se determinó el efecto de la GTPasa constitutiva en la producción de la micotoxina roquefortina C. La cinética normalizada de producción de este compuesto por 30 días mostró que el transformante produce una mayor cantidad de este metabolito respecto de la cepa parental. Además, en el transformante este aumento no decae en el tiempo, lo que si ocurre con la cepa parental. Se concluye que la señalización mediada por esta proteína G heterotrimérica altera el fenotipo y la producción de metabolitos secundarios en este hongo. Financiamiento: Puleva Biotechnologies.

**TRAUCO, GEN HOMÓLOGO AL GRUPO TRITHORAX, ES ESENCIAL PARA LA EMBRIOGÉNESIS TEMPRANA EN *ARABIDOPSIS THALIANA*.** (TRAUCO, a homologue of TRITHORAX group gene, is essential for early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*.) Aquea, F<sup>1</sup>, Matte, J<sup>1</sup>, Grossniklaus, U<sup>2</sup>, Arce-Johnson, P<sup>1</sup>. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>1</sup>, Plant Science Center, Universidad de Zurich, Suiza<sup>2</sup>.

En nuestro laboratorio estamos interesados en estudiar genes que se expresan durante las etapas tempranas de la embriogénesis en plantas, usando como modelo la embriogénesis somática de *Pinus radiata*. Mediante la técnica de cDNA-AFLP identificamos un gen homólogo al grupo Trithorax, descrito previamente sólo en animales y levaduras, que se expresa durante la embriogénesis temprana. A partir del fragmento identificado hemos clonado el gen completo, el que codifica para una proteína de 426 aminoácidos. Mediante real-time PCR determinamos que este gen presenta una alta expresión en tejido embriogénico y un menor nivel de expresión en tejidos vegetativos de *Pinus radiata*. Decidimos nombrar a este gen TRAUCO. Para estudiar la función de este gen hemos clonado TRAUCO de la planta modelo *Arabidopsis thaliana*. Utilizando una fusión transcripcional del gen reportero GUS bajo el control del promotor TRAUCO determinamos que este gen es expresado durante todo el desarrollo embrionario y en tejidos específicos de la planta tales como anteras, polen, sépalos, hidrátodos y meristema radicular. El patrón de expresión durante la embriogénesis temprana lo verificamos por hibridación in situ. La proteína TRAUCO se localiza en el núcleo al ser fusionada a GFP. Mediante análisis genéticos demostramos que la interrupción de este gen, utilizando la inserción de T-DNA, causa la detención temprana del desarrollo embrionario en el estado globular. Estos embriones mutantes presentan patrones aberrantes de división celular. Nuestros datos sugieren que el gen TRAUCO se ha conservado durante la evolución y es esencial para el desarrollo embrionario de plantas superiores..

**14-6-DIAMIDINO-2-FENILINDOL (DAPI) INDUCE LA FORMACIÓN DE MANOJOS DE POLÍMEROS DE FtsZ DE *ESCHERICHIA COLI* E INHIBE LA ACTIVIDAD GTPÁSICA.** (4-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) induces bundling of *Escherichia coli* FtsZ polymers inhibiting the GTPase activity) Nova, E<sup>1</sup>, Montecinos, F<sup>1</sup>, Brunet, J<sup>2</sup>, Lagos, R<sup>1</sup>, Monasterio, O<sup>1</sup>. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile<sup>1</sup>, Instituto de Química, PUCV<sup>2</sup>.

FtsZ (Filamentous temperature sensitivity Z) es una proteína que participa en la división celular de *E. coli* y une la sonda fluorescente DAPI. La formación del proto-anillo de FtsZ in vivo se desconoce. Nuestros resultados muestran que la formación de manojos de polímeros de FtsZ se facilita en presencia de DAPI y que los polímeros permanecen más tiempo en solución respecto a los formados en ausencia de la sonda, debido a que se favorece la forma GTP de FtsZ en los polímeros. Para precisar la localización del sitio de unión de DAPI en FtsZ se determinaron las distancias por FRET, entre DAPI y el único triptófano presente en las mutantes de FtsZ de *E. coli* Y222W, F40W y F275W. Los resultados en su conjunto apoyan un mecanismo de polimerización cooperativa, donde la unión de DAPI favorece las interacciones laterales de los protofilamentos para la formación de los manojos y estabiliza los polímeros resultantes. FONDECYT 1050677..

*Comunicaciones  
Libres Orales*

## ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS

**CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE PEPTIDOS DE R-FICOERITRINA DE GRACILARIA CHILENSIS.** (Spectroscopic characterization of peptides from *Gracilaria chilensis* R-phycoerythrin) Sepúlveda-Ugarte, J<sup>1</sup>., Martínez-Oyanedel, J<sup>1</sup>., Bunster, M<sup>1</sup>.. Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>. Los Ficoobilisomas son complejos proteicos accesorios presentes en algas rojas y cianobacterias. Estos complejos recolectan y transfieren luz hacia los sistemas fotosintéticos de estos organismos, con una eficiencia >95%. Esta alta eficiencia se debe a la presencia de cromóforos, tetrapirroles lineales unidos a residuos de cisteína. Ficoeritrina, uno de los componentes proteicos del ficobilisoma, presenta como cromóforos dos Ficoeritrobilinas (PEB) en su subunidad alfa y dos en su subunidad beta y una Ficourobilina (PUB) en su subunidad beta. El mecanismo denominado FRET (fluorescence resonance energy transfer) describe la conducción de luz en el ficobilisoma considerando tanto parámetros estructurales como espectroscópicos de los cromóforos. Para los cromóforos de Ficoeritrina se desconocen sus parámetros de rendimiento cuantico y tiempo de vida de fluorescencia, por lo que los cálculos de las vías de transferencia de luz son bastante aproximadas. Para obtener los parámetros espectroscópicos se debe contar con cada cromóforo aislado y en un ambiente semejante al que se presenta en la proteína. En el presente proyecto se purificó Ficoeritrina mediante extracción acuosa desde *Gracilaria chilensis*, utilizando precipitación con  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  y Cromatografía de Intercambio Aniónico. Posteriormente se utilizó la hidrólisis tríplica de PE para obtener péptidos con un único cromóforo, la purificación se realizó con HPLC en fase reversa. Los péptidos obtenidos se caracterizaron espectroscópicamente. Financiamiento DIUC 205037004-10, 207037006-10..

**ROL DEL ASA FLEXIBLE (AMINOACIDOS 208-220) DE LA INTEGRASA DE M-MULV EN LA INTEGRACIÓN CONCERTADA.** (Role of the flexible loop (amino acids 208 to 220) of M-MuLV Integrase in concerted integration) Acevedo, M<sup>1</sup>., Valenzuela, B<sup>1</sup>., León, O<sup>1</sup>.. Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

La integrasa (IN) es una proteína viral esencial para el ciclo replicativo de los retrovirus que cataliza el procesamiento e integración del DNA viral en el genoma de la célula huésped. Las INs poseen tres dominios, el dominio central, que posee la actividad catalítica, presenta una región que forma un asa flexible. En el virus de leucemia murina de Moloney (M-MuLV) el asa corresponde a los aminoácidos 208 a 220 y estudios previos de entrecruzamiento indican que interacciona con los extremos del DNA viral. En este trabajo se mutaron seis residuos del asa flexible de la integrasa, la enzima purificada fue analizada para la actividad de integración concertada. Se observó que mutaciones en los aminoácidos tirosina 211, arginina 212 y glutamina 214 disminuyen la actividad de integración concertada, mientras que las mutaciones de los residuos serina 215, serina 216 y glutamina 218 no afectan significativamente la actividad comparados con la enzima silvestre. Estos resultados sugieren que el asa flexible de la integrasa de M-MuLV es importante en la actividad de integración concertada. Se propone que mutaciones en el asa flexible podrían alterar la estructura de esta región aumentando su rigidez lo que podría afectar la interacción proteína - proteína y proteína DNA.

**REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE TETRAPIRROLES EN ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS. UNIÓN DE HEMO A LA GLUTAMIL-TRNA REDUCTASA.** (Regulation of tetrapyrroles biosynthesis in *A. ferrooxidans*. Binding of heme to GluTR.) de Armas, M<sup>1</sup>., Levicán, G<sup>1</sup>., Katz, A<sup>1</sup>., Orellana, O<sup>1</sup>.. Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.<sup>1</sup>.

En los organismos vivos, los tetrapirroles (hemo, clorofila, etc) se sintetizan desde el ácido delta aminolevulinico (ALA) por una vía universal. En arqueas, cloroplastos y la mayoría de las bacterias, el ALA se produce a partir del glutamil-tRNA, formado por la glutamil-tRNA sintetasa (GluRS). El glutamil-tRNA se transforma en ALA por la acción de la glutamil-tRNA reductasa (GluTR) y la glutamato semialdehído transferasa. Se considera que la GluTR es la primera enzima de la vía porque, en distintos organismos, su actividad o el nivel intracelular pueden ser sometidos a regulación dependiente del nivel de hemo. No obstante, en *Acidithiobacillus ferrooxidans*, una bacteria acidófila que posee niveles variables de hemo, tanto la GluRS como la GluTR serían clave para modular su producción. Al aumentar el hemo intracelular la GluRS se inhibe y GluTR se degrada (Levicán et al. PNAS 2007 104: 3135-3140). Para estudiar el efecto de hemo en la regulación de la síntesis de ALA abordamos el estudio de la GluTR de *A. ferrooxidans*. Una predicción de la estructura primaria sugiere la presencia de un segmento en el amino terminal que altera las propiedades catalíticas y la solubilidad de la enzima. En *E. coli* la sobreexpresión de la GluTR de *A. ferrooxidans* produce colonias rojas, no así la enzima propia. Mediante estudios bioquímicos y espectrales se observó que, a diferencia de otras, la GluTR de *A. ferrooxidans* une hemo. Esta unión es no covalente, lo que puede tener una posible función fisiológica. Financiado por Fondecyt, Conicyt, DAAD y U. de Chile..

**ASIMETRÍA EN LA UNIÓN DE SUSTRATO EN LA FBPA DE RIÑÓN DE CERDO. UN FENÓMENO INDUCIDO?** (Asymmetry in the binding of substrate in the pig kidney Fbpase. An induced phenomenon?) Asenjo, J<sup>1</sup>., Ludwig, H<sup>1</sup>., Yañez, A<sup>1</sup>., Slebe, J<sup>1</sup>.. Laboratorio de Enzimología, UACH<sup>1</sup>.

La enzima Fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa), cataliza la hidrólisis de fructosa-1,6-bisfosfato a fructosa-6-fosfato y fosfato inorgánico. La enzima es sinérgicamente inhibida por AMP y fructosa-2,6-bisfosfato. Además, altas concentraciones de sustrato provocan una inhibición parcial de la enzima. Para estudiar el mecanismo de la inhibición por sustrato hemos preparado una enzima tipo silvestre con una cola de 9Glu y dos enzimas mutantes que presentan una menor afinidad por el sustrato. Una mezcla de la enzima con cola de 9Glu y una de las dos enzimas mutantes en cantidades equivalentes fueron incubadas por 12 hrs a 4°C, lo que permite la formación de tetrámeros híbridos. Los híbridos 4:0; 3:1; 2:2p; 2:2q,r; 1:3 y 0:4, fueron separados por cromatografía de intercambio aniónico y visualizados mediante electroforesis no denaturante. Las curvas de saturación por sustrato de los híbridos formados en las mezclas FBPasaK274A:FBPasaWT-C9Glu y FBPasaY244F:FBPasaWT-C9Glu, indican que en la FBPasa existe un fenómeno de asimetría en la unión del sustrato. Este se representa con 2 sitios de alta afinidad en el dímero C1-C2, y 2 sitios de baja afinidad en el dímero C3-C4. Además, el análisis de la curva de saturación por Fru-1,6-P2, utilizando un mecanismo de inhibición parcial por sustrato con 4 sitios de unión, los valores de las constantes de disociación de los complejos enzima-sustrato aumentan (KS=KSS<KSSS<KSSSS), resultado que apoya la asimetría en la FBPasa. Se propone que el fenómeno de cambio en la afinidad de las subunidades por el sustrato es un proceso inducido. (FONDECYT 1051122, MECESUP AUSA0006, DID-UACH, PBCTXONICYT IPA05)..

**IDENTIFICACION DE AMINOACIDOS IMPORTANTES PARA LA FUNCION DEL TRANSPORTADOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO SVCT2** (Identification of key residues for the function of the ascorbic acid transporter SVCT2) Ormazabal, V<sup>1</sup>., Zuñiga, F<sup>1</sup>., Aylwin, C<sup>1</sup>., Salas, A<sup>1</sup>., Haensgen, H<sup>1</sup>., Muñoz, A<sup>1</sup>., Rivas, C<sup>1</sup>., Vera, J<sup>1</sup>.. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

El transporte de ácido ascórbico (AA) es mediado por los transportadores de sodio-ascórbato SVCT1 y SVCT2, los que se diferencian estructural y funcionalmente. SVCT2 es un transportador de alta afinidad con una Km de transporte de ácido ascórbico de 20ÅµM y se caracteriza por ser activado fuertemente por iones sodio. Hemos realizado un análisis funcional y estructural de SVCT2, realizando ensayos de modificación química con dietilpírocarbonato, mutagénesis sitio dirigida y construcción de modelos 3-D utilizando métodos de modelaje molecular por homología, células expresando en forma endógena SVCT2 y células HEK-293 sobreexpresando la quimera SVCT2-GFP y las proteínas mutantes. Los resultados indican que residuos de histidinas exofaciales de SVCT2 cumplen un papel importantes en la función de SVCT2 y modulan la capacidad del transportador de trasladar el sustrato, por otro lado los residuos de histidinas endofaciales serían cruciales en la mantención de las propiedades cinéticas y en la unión del sustrato. Estos antecedentes sugieren un rol importantes de las histidinas como determinantes funcionales y estructurales que regulan la capacidad de SVCT2 de transportar sus sustratos. Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT28.

**RELEVANCIA DE SITIOS DE UNIÓN A CA2+ Y MG2+ EN EL MECANISMO DE TRANSPORTE DE ACIDO ASCORBICO MEDIADO POR EL TRANSPORTADOR SVCT2.** (Ca2+ and Mg2+ binding site importance in the ascorbic acid transport mechanism mediated by the SVCT2 transporter.) Haensgen, H<sup>1</sup>., Zuniga, F<sup>1</sup>., Ormazabal, V<sup>1</sup>., Aylwin, C<sup>1</sup>., Pacheco, C<sup>1</sup>., Elizabeth, E<sup>1</sup>., Vasquez, O<sup>1</sup>., Rivas, C<sup>1</sup>., Vera, J<sup>1</sup>.. Laboratorio de Antioxidantes, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.<sup>1</sup>

EIAA ingresa a las células por los cotransportadores de sodio-ascorbato SVCT1 y SVCT2. Ambas isoformas son activadas por Na<sup>+</sup>, poseen características cinéticas distintas y muestran diferentes sensibilidades por cationes divalentes. La ausencia de Ca2+ o Mg2+ disminuye el transporte de AA en SVCT1 y no altera la actividad de SVCT2. Sin embargo, la ausencia de ambos cationes produce una pérdida total del transporte en SVCT2 y sólo parcial en SVCT1. Hemos realizado mutaciones puntuales en SVCT2 dirigidas a aminoácidos claves para un posible motivo de unión a metales. El análisis funcional se realizó mediante ensayos de transporte en células HEK-293 transfectadas. Los resultados muestran cambios en la localización subcelular del transportador para algunas mutantes, marcadas diferencias en los niveles de captación de AA, en la sensibilidad por los cationes Ca2+ y Mg2+ y un aumento considerable en la Km de transporte. Los resultados obtenidos demuestran la importancia tanto funcional como estructural de los aminoácidos pertenecientes al sitio de unión de metales divalentes, cuyas mutaciones convirtieron al transportador SVCT2 en un transportador de baja afinidad. Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT-28.

**R701 Y K710 NO DETERMINAN LA UNIÓN ESPECÍFICA DE PI(4,5)P2 AL C-TERMINAL DE TRPV1.** (R701 and K710 do not determine the specific binding of PI(4,5)P2 to the C-terminal of TRPV1) Oyarzún, I<sup>1</sup>., Raddatz, N<sup>2</sup>., Rosenmann, E<sup>1</sup>., Orta, G<sup>1</sup>., Brauchi, S<sup>1</sup>., Latorre, R<sup>1</sup>.. CECS<sup>1</sup>, CECS, UACH<sup>2</sup>.

En mamíferos, las bases moleculares de la percepción de temperatura se encuentran en canales de iones llamados receptores de potencial transitorio (TRP). Estos están presentes principalmente en neuronas sensoriales primarias o nociceptores. Varios canales TRP son modulados por fosfatidilinositol bifosfato (PIP2), una molécula de señalización intracelular que activa a la mayoría de ellos. Para TRPM8 se ha descrito que PIP2 interacciona con residuos localizados en una secuencia conservada del C-terminal, llamada TRP box. Debido a que esta secuencia está presente en la familia TRP, se propone la existencia de un sitio común de interacción con el fosfoinosítido. En el caso del miembro TRPV1, receptor vanilloide de calor, con un umbral de activación a 43oC, el cual es modulado por PIP2. Aún existe controversia respecto a la manera en que PIP2 estaría ejerciendo su efecto: mientras algunos postulan una unión directa a una fracción del C-terminal; otros, un efecto indirecto mediado por una vía de señalización que involucra a la fosfolipasa C. En nuestro laboratorio demostramos mediante ensayos PLO y electrofisiología, que el efecto activador que ejerce PIP2 sobre TRPV1, involucra la unión directa del fosfoinosítido con la porción C-terminal. La naturaleza de ésta es específica para la isoforma 4,5 de PIP2. Además, encontramos que los aminoácidos R701 y K710 (residuos conservados del TRP box) de TRPV1, no están comprometidos en la unión a PIP2, sin embargo, son importantes para la función del canal. Estas cargas podrían estar involucradas en el acoplamiento y apertura del canal. Financiamiento CAEN-ISN, FONDECYT 1070049.

**IMPORTANCIA DE AMINOÁCIDOS CONSERVADOS EN LA FOSFOFRUCTOQUINASA DEPENDIENTE DE ADP DE P. HORIKOSHII.** (Importance of conserved aminoacid residues in the ADP-dependent phosphofructokinase from P. horikoshii) Merino, F<sup>1</sup>., Caniuguir, A<sup>1</sup>., Brown, G<sup>2</sup>., Koshi, S<sup>2</sup>., Yakunin, A<sup>2</sup>., Guixé, V<sup>1</sup>.. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>, Structural Genomics Consortium, University of Toronto, Toronto, Canada<sup>2</sup>.

El flujo glicolítico en las arqueas del grupo de los thermococcales se realiza por una versión modificada de la vía de Embden-Meyerhof. Una de las principales modificaciones es que las actividades glucoquinasa y fosfofructoquinasa son dependientes de ADP en vez de ATP. Las enzimas que catalizan este paso en la vía son homólogas y pertenecen a la superfamilia riboquinasa. Si bien la estructura cristalográfica de la fosfofructoquinasa dependiente de ADP de *Pyrococcus horikoshii* se conoce, hasta la fecha no se ha reportado su caracterización bioquímica. En este trabajo caracterizamos la enzima silvestre y diez mutantes de residuos conservados dentro de la superfamilia. En todas las mutaciones el aminoácido conservado se reemplazó por alanina. La enzima silvestre posee una  $K_m$  aparente de 8 µM para fructosa-6-P y de 12 µM para MgATP. Tres de las mutantes estudiadas (D17A, R185A, D443A) presentaron una drástica disminución en el valor de  $k_{cat}$ . De éstas, las mutantes D17A y R185A presentaron valores de  $K_m$  mayores que los de la enzima silvestre tanto para fructosa-6-P como para MgADP. De las restantes, la mayoría presenta una disminución en la afinidad por fructosa-6-P sin cambio significativo en la  $K_m$  para MgADP. Los resultados obtenidos permiten identificar posiciones conservadas dentro de la superfamilia riboquinasa relacionadas con la catálisis y con la unión de fructosa-6-P. Los resultados se discutirán en relación a nuestros experimentos de docking realizados en la fosfofructoquinasa dependiente de ADP de *Methanococcus jannaschii* (Fondecyt 1070111)..

**IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE UN SITIO ESTRUCTURAL DE UNIÓN A NUCLEOTIDOS EN EL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT1.** (Structural Identification of nucleotide binding site in the glucose transporter GLUT1) **Zuñiga, F<sup>1</sup>, Ormazabal, V<sup>1</sup>, Salas, A<sup>1</sup>, Aylwin, C<sup>1</sup>, Haensgen, H<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>, Vera, J<sup>1</sup>.** Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

GLUT1 es un transportador de glucosa que transporta el sustrato a favor de su gradiente de concentración en un proceso saturable e independiente de la hidrólisis de ATP. Sin embargo, estudios funcionales y de fotomarcaje han demostrado que GLUT1 es un transportador que une nucleótidos. Hemos realizado un estudio funcional y estructural de GLUT1 utilizando flavonoides y metilxantinas, compuestos que interactúan con sitios de unión a nucleótidos, análisis de estructura 3D, ensayos de docking, mutagénesis sitio dirigida, células que expresan en forma endógena GLUT1 y células sobreexpresando la quimera GLUT1-GFP. Los resultados funcionales y de docking utilizando flavonoides y metilxantinas revelan la presencia de un dominio de interacción común para estos compuestos, localizado hacia el lado exofacial del transportador. Estudios de mutagénesis sitio dirigida en residuos de aminoácidos que forman parte de este dominio estructural muestran una pérdida en la capacidad de ser afectados por la presencia de flavonoides. Los resultados en su conjunto apoyan la tesis de la presencia de un sitio estructural, con características de sitio de unión a nucleótidos localizado en la cara exofacial de GLUT1 capaz de modular la actividad funcional del transportador Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT-28.

**ESTADO DE AGREGACION E INHIBICION DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE E. COLI POR MgATP.** (Aggregation state and MgATP inhibition of phosphofructokinase-2 from E. coli) **Baez, M<sup>1</sup>, Babul, J<sup>1</sup>, Astorga, G<sup>1</sup>, Merino, F<sup>1</sup>.** Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.<sup>1</sup>

La unión de MgATP al sitio alostérico de la fosfofructoquinasa-2 (Pfk-2) de E. coli tiene como resultado la inhibición de la enzima y la asociación del dímero nativo en tetrámero. Sin embargo, no se conoce la relación entre ambos aspectos de la regulación de la enzima. Nuestro grupo ha informado que la remoción sistemática de segmentos del extremo carboxilo terminal genera enzimas con comportamientos cinéticos alterados que no forman tetrámeros en presencia de MgATP. En este trabajo se muestra la caracterización de dos mutantes puntuales del extremo carboxilo terminal, construidas con el fin de afectar separadamente la inhibición enzimática y la formación de tetrámeros. La mutante Y306A mostró parámetros cinéticos e inhibición alostérica idénticos a los de la enzima silvestre, pero no presentó cambios en el estado de agregación en presencia del nucleótido. Por otra parte, la mutante L307A presentó el mismo comportamiento cinético y estado de agregación en presencia del nucleótido que las mutantes que resultaron al remover segmentos del extremo carboxilo terminal. Estos resultados indican que la formación de tetrámeros no es requisito para la regulación alostérica de la Pfk-2 y en conjunto con su estructura cristalográfica permiten comprender la conducta cinética de las mutantes utilizadas en este trabajo. Fondecyt 1050818.

#### EXPRESIÓN GÉNICA, BIOQUÍMICA Y PROTEÓMICA DE PLANTAS

**ESTUDIO PROTEOMICO DE LA FORMACION DE MADERA EN PINO MARITIMO.** (PROTEOMIC STUDY OF WOOD FORMATION IN MARITIME PINE) **Garcés, M<sup>1</sup>, Paiva, J<sup>2</sup>, Lalanne, C<sup>2</sup>, Claverol, S<sup>3</sup>, Le Provost, G<sup>2</sup>, Herrera, R<sup>1</sup>, Plomion, C<sup>2</sup>.** Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile<sup>1</sup>, UMR Biogeco 1202, INRA, Equipe de génétique, 69 route de Arcachon, CESTAS, France<sup>2</sup>, Pole Proteomique Genomique Fonctionnelle, Université Victor Segalen -Bordeaux 2, Bordeaux, France<sup>3</sup>.

La Madera es un material altamente variable, tanto a nivel anatómico como en sus propiedades mecánicas y químicas. Junto con la variación genética, el ambiente y la edad del cambium también afectan las propiedades de la madera. En este estudio, testamos la hipótesis que esta variabilidad puede estar ligada a la expresión diferencial de proteínas durante la formación de madera. En una primera etapa, se llevo a cabo el análisis y comparación de los mapas proteicos obtenidos por electroforesis bidimensional de proteínas totales extraídas de xilema en diferenciación, de acuerdo a un gradiente desde la base a la cima del árbol (4 niveles con 4 repeticiones). Luego del análisis de imágenes y análisis estadísticos, aquellas proteínas que mostraron expresión diferencial fueron caracterizadas sistemáticamente por espectrometría de masas en tandem (ESI MSMS). En paralelo, las mismas muestras fueron caracterizadas anatómicamente y químicamente. Basados en las categorías funcionales de las proteínas sobreexpresadas y su nivel de sobreexpresión, en la base del árbol son sobreexpresadas proteínas involucradas en defensa y respuesta a estrés y en la cima del árbol proteínas relacionadas con división celular y expresión de genes y proteínas. Las funciones celulares de las proteínas identificadas, son consecuentes con los resultados obtenidos en los análisis químicos y anatómicos. El uso de análisis complementarios, como proteómica, transcriptómica, análisis químicos y físicos en la formación de madera, esta ayudando a develar nuevas pistas para tratar de entender este complejo proceso.

**ESTUDIO MOLECULAR DE LA RESPUESTA GRAVITROPICA EN PLANTULAS DE PINO.** (Molecular study of the gravitropic response in pine seedlings) **Herrera, R<sup>1</sup>, Moya, M<sup>1</sup>, Ramos, P<sup>1</sup>, Moya-León, M<sup>1</sup>, Plomion, C<sup>2</sup>.** 1. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, 2 Norte 685 Talca Chile<sup>1</sup>, 2. INRA Génétique et amélioration des arbres forestiers BP45 33610 CESTAS Francia<sup>2</sup>.

La pérdida de verticalidad de fuste en plántulas de pino, induce la respuesta molecular, la cual puede describirse como temprana y tardía. La primera, inmediatamente después de inducido el efecto y la segunda dada luego de algunas horas de exposición. El objetivo de este trabajo es conocer los genes y proteínas que se expresan en respuesta a crecimiento por inclinación. Plántulas de un año de pino fueron sometidas a tratamiento, tomándose muestras de los distintos tejidos a distintos tiempos. Se generaron bibliotecas de cDNA, mediante substracción (SSH) para los primeros tiempos de exposición (2, 10 y 24 horas). Del mismo modo, se analizaron las proteínas en geles de dos dimensiones, contrastando la respuesta temprana (22 horas) y tardía (8 días). El análisis de las secuencias de ESTs reflejó que un 40% de ellas no tenían función (secuencias nuevas y función desconocida). El resto, correspondieron a genes involucrados en metabolismo primario, pared celular, señales de transducción, biosíntesis de hormonas, citoesqueleto y transporte. En cuanto a las proteínas, 68 spots mostraron expresión diferencial, 25 de las cuales han sido secuenciadas y correspondieron a metabolismo primario, fotosíntesis, metabolismo de carbohidratos y defensa. Es posible observar proteínas que se expresan fuertemente luego de las primeras horas de tratamiento y que disminuyen su expresión en el tiempo, así otras que presentan un comportamiento inverso. Se discutirá la correlación de estos genes en la respuesta gravitropica tanto a nivel de transcritos como de proteínas. Agradecimiento: GEMA alpha-UE, Enlace Utaica, Fondecyt 1071026.

**REDES DE COEXPRESION PARA LA ASIGNACION DE FUNCION PROTEICA EN ARABIDOPSIS.** (Coexpression networks in the protein function prediction in Arabidopsis.) Vergara, A<sup>1</sup>, Orellana, A<sup>1</sup>, Gutierrez, R<sup>2</sup>. Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal<sup>1</sup>, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Núcleo Milenio en Genómica Funcional de Plantas<sup>2</sup>.

Los microarreglos de DNA han revolucionado el monitoreo de la expresión génica. La gran cantidad de datos generados con esta tecnología y su disponibilidad pública nos entregan hoy más que nunca la posibilidad de analizar la expresión génica desde una perspectiva sistémica. En este trabajo, construimos redes de co-expresión utilizando 1701 microarreglos ATH1 de Affymetrix™. En nuestras redes los nodos representan los genes y los arcos entre éstos la similitud entre sus perfiles de expresión. Análisis de topología indican que estas redes poseen propiedades distintas a una red aleatoria, con características de Pequeño mundo. La distribución de frecuencia de la conectividad de los genes es Scale free, donde hay muchos nodos poco conectados y muy pocos altamente conectados (hubs). Sorprendentemente, un número importante de los hubs de nuestras redes no tienen función conocida. Desarrollamos un algoritmo que en base a las características del vecindario de un gen en la red es capaz de predecir su función. Como ejemplo, utilizamos este enfoque para identificar 55 genes nuevos que estarían involucrados en el metabolismo de la pared celular vegetal. El análisis fenotípico de plantas mutantes en estos genes permitirá validar su rol en dicho proceso. Fondecyt-1060457-1070379-MNPCB-P02-009-F

**SOBREEXPRESIÓN DEL GEN LHCA1 INCREMENTA LA TOLERANCIA A ESTRÉS OXIDATIVO EN PLANTAS TRANSGÉNICAS DE TOMATE** (Overexpression of LHCA1 gene increases tolerance to oxidative stress in tomato transgenic plants) Chilian, J<sup>1</sup>, Verdugo, I<sup>1</sup>, Poblete, F<sup>1</sup>, Ruiz, S<sup>1</sup>, González, E<sup>1</sup>. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca<sup>1</sup>.

La exposición de plantas a condiciones de estrés abiótico genera un desacoplamiento y sobreexcitación del aparato fotosintético, conduciendo a un estrés oxidativo por acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Uno de los mecanismos protectores más importantes con el que cuentan las plantas frente a este tipo de estrés es la disipación del exceso de energía de excitación en forma de calor a través del mecanismo de quenching no-fotoquímico (NPQ). Estudios previos indican que genes que codifican para proteínas del complejo antena del fotosistema I son diferencialmente expresados bajo condiciones que propician estrés oxidativo. Con el fin de analizar la contribución de una de tales proteínas al proceso de NPQ, se ha generado plantas transgénicas de *Solanum lycopersicon* que sobreexpresan constitutivamente la proteína LHCA1. Tales plantas exhiben un incremento significativo en la tolerancia a factores de estrés abiótico respecto de plantas no transformadas. Asimismo, las plantas transgénicas, registran modificaciones en los parámetros fotosintéticos que sugieren un aumento en el NPQ, detectándose simultáneamente una tasa menor de lipoperoxidación de membranas, lo que se interpreta como una disminución en la producción de ROS. Los resultados obtenidos indican que la sobreexpresión de LHCA1 incrementa tolerancia a condiciones medioambientales que inducen estrés oxidativo mediante el aumento de la capacidad de disipación de energía mediante NPQ.

**TRANSPORTE DE S-ADENOSILMETIONINA (SAM) ES REQUERIDO PARA LA METILACION DEL HOMOGALACTURONANO EN EL APARATO DE GOLGI** (Transport of S-Adenosylmethionine (SAM) is required for methylation of homogalacturonan in the Golgi apparatus) Ibar, C<sup>1</sup>, Orellana, A<sup>1</sup>. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile<sup>1</sup>. Patrocinante: Vera, M.

Homogalacturonano (HGA) es uno de los polisacáridos principales en la fracción péctica extraída de pared celular primaria. Éste es metilado en el aparato de Golgi por HGA-Metiltransferasa, enzima que utiliza el polímero en crecimiento y S-adenosilmetionina (SAM) como sustratos. En este trabajo analizamos la localización y la topología de la HGA-MT en tallos etiolados de arveja, encontrándose en fracciones enriquecidas en Golgi con su dominio catalítico orientado hacia el lumen. Puesto que SAM se sintetiza en el citosol, analizamos el transporte de SAM utilizando [14C-carboxil] SAM, un sustrato que no marca radioactivamente a las pectinas. La incorporación resultó ser sensible a la temperatura, detergentes, cambios osmóticos, proteasas y saturable, con una Km = 33,5 M. La incorporación de SAM es inhibida por S-adenosilhomocisteína mientras que sustratos relacionados con la biosíntesis de homogalacturonano, como UDP-GalA, UDP-GlcA y AcetilCoA no tienen efecto. La combinación de sustratos (UDP-GalA + AcetilCoA o UDP-GlcA + AcetilCoA) tiene un leve efecto en la incorporación de SAM. Experimentos de doble marca usando [3H-metil] SAM y [14C-carboxil] SAM muestran que la razón 3H:14C se incrementa con el tiempo sugiriendo que en el Golgi los productos de la transferencia de SAM tienen distintos destinos y que el grupo metilo se transfiere a aceptores endógenos. Estudiamos la naturaleza de los aceptores que resultan metilados después de la incorporación de [14C-metil] SAM y estos son sensibles a pectinasa y pectina metilesterasa, pero no a proteasas, sugiriendo que el grupo metilo se transfiere a homogalacturonano. (Financiado por Fondecyt 1070379, MNPCB P02-009-F).

**LA METILACION EN LA REGIÓN TRANSCRITA DETERMINA LA CAPACIDAD DE RESPUESTA A ESTIMULO DE LOS GENES DE ARABIDOPSIS THALIANA** (GENE BODY METHYLATION IS A KEY FACTOR FOR REGULATION OF GENE EXPRESSION IN ARABIDOPSIS THALIANA) Aceituno, F<sup>1</sup>, Gutierrez, R<sup>1</sup>. DEPARTAMENTO DE GENÉTICA MOLECULAR Y MICROBIOLOGÍA, FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE<sup>1</sup>.

Las micromatrices de DNA se han convertido en la herramienta principal para medir cambios de expresión génica a nivel global en organismos modelo. La gran cantidad de datos disponibles públicamente ofrecen una oportunidad única para entender los principios generales que gobiernan la regulación de la expresión génica. Sólo para la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, existen >1800 hibridaciones de micromatrices de genoma completo (ATH1, AffymetrixMR), correspondientes a >470 condiciones experimentales distintas. En nuestro análisis integramos y analizamos los datos de expresión disponibles en la plataforma ATH1. El análisis de estos datos consistió en: 1) Normalizar las hibridaciones utilizando RMA, 2) filtrar las hibridaciones de baja calidad, 3) definir comparaciones relevantes entre tratamientos y controles 4) analizar la expresión diferencial de genes en estas comparaciones. Con este análisis se determinó la capacidad global de respuesta de un gen, definido como el número de comparaciones en las cuales la expresión en el tratamiento difirió significativamente del control. El modelamiento de este parámetro como función de distintas características estructurales de los genes reveló que la metilación en la región transcrita y la presencia de TATA-box fueron los mejores predictores de la capacidad de respuesta. Esto fue independiente del tipo de estímulo que causó la respuesta. De este modo, proponemos que la metilación en la región transcrita y la presencia de TATA-box tienen un rol funcional determinando la capacidad global de respuesta a distintos estímulos. Agradecimientos a FONDECYT (1060457) y FUNDACION ANDES (C1406062). F.F.A es becario de doctorado CONICYT.

**CARACTERIZACIÓN DE TRES GENES MADS-BOX RELACIONADOS CON EL DESARROLLO FLORAL EN *VITIS VINIFERA*** (Characterization of three flowering related MADS-box genes in *Vitis vinifera*) Poupin, M<sup>1</sup>., Federici, F<sup>2</sup>., Timmermann, T<sup>2</sup>., Matus, T<sup>2</sup>., Medina, C<sup>2</sup>., Arce-Johnson, P<sup>2</sup>., Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología<sup>1</sup>, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>.

Los genes MADS-box son factores de transcripción que cumplen diversas funciones en el desarrollo vegetal, como por ejemplo la formación de órganos florales. En especies modelo se ha descrito que esta función estaría relacionada con la expresión de tres clases de MADS-box conocidas como A, B y C. En este trabajo identificamos tres secuencias codificantes de genes MADS-box en *Vitis vinifera*. Por alineamientos identificamos dominios típicos de esta familia génica en las secuencias. Estudios filogenéticos las agruparon con sus respectivos homólogos de otras especies. Estos análisis nos permitieron relacionar a nuestros genes con la clase B (responsable de la formación de pétalos y estambres en otras especies) y nombrarlos *V. vinifera* PISTILLATA, *V. vinifera* TM6 y *V. vinifera* AP3. Realizamos estudios de expresión por RT-PCR en tiempo real en distintos tejidos y estadios de desarrollo de la planta. Determinamos que los genes VvAP3 y VvPI se expresan exclusivamente en tejido floral. Expresión de VvAP3 y VvPI fue detectada sólo en pétalos y estambres en la flor, mientras que para VvTM6 también se encontró en carpelo. Además, identificamos expresión de VvTM6 en órganos como fruto y semilla, siendo este trabajo el primero que presenta evidencia de que un gen tipo TM6, cuyos homólogos se han asociado a desarrollo floral, se exprese también durante el desarrollo y la maduración del fruto. Aunque estos genes pertenecen a la misma clase génica, podrían actuar en diferentes períodos y tejidos durante el desarrollo de los órganos reproductivos en vid. Consorcio tecnológico de la Fruta, CONICYT.

**VII.4 CARACTERIZACIÓN DE GENES NUCLEOLARES EN *C. carpio***. (Characterization of *C. carpio* nucleolar genes). Quezada, C., Alvarez, M., Molina, A., Pinto, R., Navarro, C., Vera, M.I. Laboratorio Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada.

La segregación de los componentes nucleolares en células hepáticas y de pituitaria es uno de los rasgos fenotípicos más peculiares que se observa en carpas adaptadas a las condiciones ambientales de invierno. La segregación nucleolar refleja la inactivación temporal de la biogénesis ribosomal. No obstante en verano, los componentes nucleolares entremezclados muestran una actividad de síntesis normal.

La regulación estacional de la expresión génica nucleolar de la carpa se ha abordado a través de la caracterización de genes como el que codifica para la proteína ribosomal L41 y nucleolina. Ésta última es la proteína más abundante en nucléolo y participa en múltiples etapas de la biogénesis ribosomal, incluyendo la regulación de la transcripción de rRNA. Así, es de particular interés correlacionar la reprogramación nucleolar observada en la carpa con la actividad de nucleolina durante aclimatización.

Con este propósito, hemos aislado y secuenciado un clon de cDNA de nucleolina en hígado de carpa que codifica para los cuatro dominios de unión a RNA además del dominio rico en glicina y arginina del extremo C-terminal, existiendo aparentemente dos transcritos de distinto tamaño. Asimismo, utilizando como sonda un clon de cDNA conteniendo la totalidad de la región codificante del gen de L41, se rastreó una biblioteca genómica de carpa obteniéndose dos recombinantes positivos que están siendo caracterizados. La expresión estacional de ambos genes está siendo evaluada por northern blot y RT-PCR en diferentes tejidos. FONDECYT 1000-061, DI-UNAB 58-A/99, 59-A/99, 61-A/99. (E-mail: mvera@abello.unab.cl)

**GLUTAREDOXINA C9 COMO GEN MODELO DE ESTUDIO DE LA RESPUESTA TEMPRANA A ÁCIDO SALICÍLICO EN *ARABIDOPSIS THALIANA***. DEPENDENCIA DE NPR1, ANÁLISIS DE PROMOTOR Y RESPUESTA A INFECCIÓN POR PATÓGENO (Glutaredoxin c9 as a model gene for the study of the early response to salicylic acid in *Arabidopsis thaliana*. npr1 dependence, promoter analysis and pathogen infection response) Blanco, F<sup>1</sup>., Cechinni, N<sup>2</sup>., Salinas, P<sup>1</sup>., Alvarez, M<sup>2</sup>., Holuigue, M<sup>1</sup>. Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.<sup>1</sup>, CIQUIBIC, Universidad de Córdoba, Córdoba, Argentina.<sup>2</sup>.

El ácido salicílico (SA) tiene un rol central en la activación de genes de defensa a estrés en plantas, los que de acuerdo a su cinética de activación pueden clasificarse como de respuesta temprana o tardía. Evidencias previas sugieren que existiría un requerimiento diferencial del co-activador NPR1 y distintos elementos reguladores en cis, para la activación de genes de respuesta temprana a SA. Utilizando microarrays y AFLP-TP, identificamos 229 genes cuya expresión aumenta luego de 2,5 h de tratamiento con SA. De ellos, 219 serían dependientes y 30 independientes de NPR1. Para observar las categorías funcionales en que se clasifican estos genes se utilizó la base de datos funcional MIPS. Posteriormente se realizó un análisis in silico de las secuencias promotoras de estos 2 grupos de genes, permitiendo identificar distintos elementos reguladores putativos. Se seleccionó el gen GRXC9, como modelo de estudio y mediante northern, se analizó el patrón de inducción, la dependencia del coactivador NPR1 y de la síntesis proteica de novo y el mecanismo de activación por SA. La activación de GRXC9 en respuesta a infección por un patógeno bacteriano avirulento (el cual genera la acumulación de SA) fue confirmada mediante hibridaciones tipo northern. En estos tratamientos los niveles de SA fueron medidos por HPLC y comparados con los obtenidos en el tratamiento exógeno con SA. Finalmente, se realizó un análisis de promotor del gen GRXC9 utilizando plantas transgénicas expresando la construcción PGRXC9-Egfp-GUS, tratadas con SA e infectadas con distintos patógenos bacterianos. FONDECYT 1060494.

**REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GEN SDH2-3 EN SEMILLAS DE *ARABIDOPSIS THALIANA***. ESTUDIOS DE UNIÓN DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN AL PROMOTOR (Regulation of SDH2-3 expression in *Arabidopsis thaliana* seeds. Binding Studies of transcription factors to the promoter) Roschztardt, H<sup>1</sup>., Vázquez, M<sup>1</sup>., Gómez, I<sup>1</sup>., Alonso, R<sup>2</sup>., Vicente-Carbajosa, J<sup>2</sup>., Araya, A<sup>3</sup>., Jordana, X<sup>1</sup>., Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Dpto. de Biotecnología-UPM, E.T.S.I. Agrónomos, Madrid 28040, España<sup>2</sup>, Laboratoire de Réplication et Expression des Genes Eucaryotes et Rétroviraux, UMR 5097, CNRS et Université Victor Segalen-Bordeaux II, 33076 Bordeaux-Cedex, Francia<sup>3</sup>.

Nuestro grupo ha descrito que el gen SDH2-3 se expresa específicamente en el embrión, durante la fase de maduración de éste en la semilla (Elorza et al., 2006, Plant Cell Physiol. 47:14-21). La mutación de su promotor, la fusión de los promotores modificados al gen reportero GUS ( $\beta$ -glucuronidasa), y el posterior análisis de plantas de *A. thaliana* transformadas con estas construcciones, permitió establecer que mutaciones en elementos reguladores en cis del tipo ABRE (de respuesta a ácido abscísico) y RY afectan la actividad del promotor SDH2-3. Por otra parte, hemos determinado que el transcrito del gen SDH2-3 está disminuido en semillas de plantas mutantes homocigotas abi3-5 y fus3-3, lo que demuestra que los factores de transcripción ABI3 y FUSCA3 regulan su expresión en semilla. Nuestros resultados nos permiten concluir que el gen SDH2-3 está regulado transcripcionalmente por ABI3. Además la sobreexpresión de ABI3 (plantas 35S::ABI3) induce la expresión del gen SDH2-3 en tejido vegetativo de manera dependiente de la fitohormona ácido abscísico (ABA). Se presentarán ensayos de interacción in vitro de los factores antes mencionados a secuencias del promotor del gen SDH2-3. FONDECYT 1060485 y CONICYT AT-4040013.

## EXPRESIÓN GÉNICA, SEÑALIZACIÓN CELULAR

**ANÁLISIS MEDIANTE SAGE DEL TRANSCRIPTOMA INVOLUCRADO EN EL PATTERNING DORSOVENTRAL DEL EMBRIÓN DE XENOPUS** (SAGE analysis of the transcriptome involved in dorsoventral patterning of *Xenopus* embryos) **Faunes, F<sup>1</sup>, Vergara, I<sup>2</sup>, Castellanos, J<sup>2</sup>, Melo, F<sup>2</sup>, Larrain, J<sup>1</sup>.** Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Departamento de Microbiología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>.

El embrión de *Xenopus* es un modelo clásico para estudiar el desarrollo embrionario temprano. Mediante aproximaciones pre-genómicas, se ha identificado una serie de genes involucrados en el patterning dorsoventral. Sin embargo, estos estudios han estado sesgados a la detección de un grupo limitado de transcritos. Estudios globales del transcriptoma indican que los niveles de transcripción son al menos 10 veces superiores a lo descrito previamente. Hoy se pueden realizar estudios globales en *Xenopus tropicalis* debido a que su secuencia genómica está disponible. En este trabajo, utilizamos la metodología SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) para identificar nuevos transcritos involucrados en el establecimiento del patrón dorsoventral. Preparamos genotecas SAGE desde explantes dorsales y ventrales de gástrula de *X.tropicalis* y presentamos el análisis comparativo de ~30.000 tags por genoteca. La identificación de transcritos a partir de los tags se realizó usando un nuevo método de bioinformática. Es importante destacar que todos los tags de genes con diferencia de expresión dorsoventral conocida muestran la distribución correcta; que ~30% de todos los tags experimentales no proviene de transcritos conocidos y que 180 tags presentan diferencia significativa entre dorsal y ventral. Para verificar las asignaciones y la diferencia de expresión de algunos tags, realizamos un protocolo basado en PCR. Este es el primer experimento SAGE en *Xenopus* y esperamos identificar nuevos transcritos involucrados en el establecimiento del patrón dorsoventral. Agradecimientos: Beca Doctorado CONICYT, Proyecto FONDECYT 1070357.

**EL DOMINIO DE TRANSACTIVACIÓN DE RUNX NO ES NECESARIO PARA LA INTERACCIÓN CON C/EBP $\beta$**  (The transactivation domain of Runx is not necessary for the interaction with C/EBP $\beta$ ) **Bruna, C<sup>1</sup>, Marcellini, S<sup>1</sup>, Olate, J<sup>1</sup>, Montecino, M<sup>1</sup>.** Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.<sup>1</sup>

La activación de genes tejido-específicos depende de una combinación de mecanismos entre los cuales se incluye la organización de elementos regulatorios en los promotores de dichos genes. Para el caso de genes tejido óseo-específicos, se ha descrito una interacción física y funcional entre los factores de transcripción Runx2 y C/EBP $\beta$  que promueve una activación transcripcional sinérgica, que regularía la expresión de dichos genes durante la diferenciación osteoblástica. Runx2 es un transactivador esencial para la generación del fenotipo osteoblástico, que recluta una variedad de factores de transcripción y co-activadores. C/EBP se encuentra ampliamente distribuido y es fundamental para la diferenciación celular y funciones metabólicas de diversos tejidos. Además, se ha reportado la interacción de ambos factores de transcripción con complejos que tienen actividad remodeladora de cromatina. Se ha determinado que el dominio de transactivación de Runx2 se localiza en el C-terminal y diversos estudios indican que a través de este dominio, Runx2 interactúa con proteínas como: C/EBP $\beta$ , VDR, p300 y Smads. En este trabajo, mediante ensayos de GST-pull down, utilizando isoformas de Runx2 y mutantes que carecen de parte o de la totalidad del dominio de transactivación, se determinó que dicho dominio no contribuye en su interacción con C/EBP $\beta$ . Estos resultados nos permiten postular un modelo en el que el dímero Runx2-C/EBP $\beta$ , puede simultáneamente reclutar complejos asociados a ambos factores hacia genes blanco durante la diferenciación osteoblástica.

**LA DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS CACO-2 DESENCADENA UN REEMPLAZO DE GLUTATIÓN POR VITAMINA C PARA LA DEFENSA ANTIOXIDANTE, INCLUYENDO LA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DE SVCT1** (Caco-2 Cell Differentiation Triggers a Glutathione to Vitamin C Replacement in Antioxidant Defense, Including SVCT1 Transcriptional Regulation.) **Villagrán, M<sup>1</sup>, Maldonado, M<sup>1</sup>, Hechenleitner, M<sup>1</sup>, Soliz, C<sup>1</sup>, Guzmán, P<sup>1</sup>, Barra, V<sup>1</sup>, Zúñiga, F<sup>1</sup>, Vera, J<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>.** Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Antioxidantes<sup>1</sup>.

En varios tipos celulares la diferenciación se caracteriza por una mayor sensibilidad al estrés oxidativo asociado con una reducción de los niveles de glutatión. Al estudiar este paradigma en las células CaCo-2, verificamos que la diferenciación celular se caracteriza por una disminución del contenido de glutatión y menor sobrevivencia a la exposición a peróxido de hidrógeno, exacerbada en células privadas de glutatión mediante inhibición de su síntesis con butionil-(SR)-sulfoximina (BSO). Sin embargo, encontramos que la diferenciación desencadena cambios en la defensa antioxidante caracterizados por un aumento del transporte, acumulación y retención del ácido ascórbico en células diferenciadas, que se traducen en un reemplazo del glutatión por una mayor dependencia de vitamina C para la defensa antioxidante. La inhibición de la síntesis de glutatión con BSO aumentó los niveles del transportador de ácido ascórbico SVCT1 y aumentó la actividad transcripcional de 1500 pb del promotor de SVCT1, controlando la expresión de un reportero. El up-regulation del mRNA de SVCT1 en respuesta al vaciamiento de glutatión aumentó la capacidad de las células para transportar, acumular el ácido ascórbico y revertir la mayor sensibilidad de las células diferenciadas al estrés oxidativo. Esta evidencia muestra que existe una regulación coordinada de la defensa antioxidante durante la diferenciación que parece estar controlada a nivel de la transcripción de genes del metabolismo de la vitamina C.

**LOS SITIOS DE UNIÓN A RUNX PRESENTES EN EL INTRON 5 DEL GEN RUNX1 SON SITIOS FUNCIONALES** (RUNX Binding motif within intron 5 of RUNX1 gene are functional) **Hinojosa, M<sup>1</sup>, Stuardo, M<sup>1</sup>, Martínez, M<sup>1</sup>, Rebolledo, B<sup>1</sup>, Vergara, V<sup>1</sup>, Gutiérrez, S<sup>1</sup>.** Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

El gen RUNX1 pertenece a una familia de genes que codifican para factores de la transcripción, su expresión es esencial para el desarrollo de la hematopoyesis y es blanco frecuente de translocaciones cromosómicas. Se ha descrito que SNPs (Polimorfismos Nucleotídicos Simples) que afectan a sitios intrónicos de unión a RUNX están involucrados en el desarrollo de susceptibilidad hacia ciertas enfermedades autoinmunes. A través de análisis in silico del intron 5 del gen RUNX1 se descubrieron 16 sitios de unión para proteínas RUNX. Con el fin de determinar si estos sitios son funcionales, se realizaron genes de retardo con algunas de las secuencias de unión presentes en el intron 5; estos sitios además fueron clonados en el vector pGL3 Basic y posteriormente fueron transfectados en células HeLa para evaluar su capacidad de regular la expresión del gen reportero de luciferasa. Nuestros resultados muestran que RUNX1 se une in vitro a estos sitios intrónicos y estos son capaces de modular la transcripción de un gen reportero. Más aún, utilizando la técnica de inmuprecipitación de cromatina demostramos que RUNX1 se une in vivo a regiones del intron 5 del gen RUNX1. En conjunto, estos antecedentes sugieren que los sitios de unión a RUNX en el intron 5 son sitios funcionales in vivo.

**SP1 PARTICIPA EN LA REPRESIÓN DE LA ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL DEL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS 1 POR D-GLUCOSA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO** (Sp1 participates in the repression of the transcriptional activity of equilibrative nucleoside transporter 1 by D-glucose in human foetal endothelium) **Puebla, C<sup>1</sup>, Farías, M<sup>1</sup>, Casanello, P<sup>1</sup>, Sobrevia, L<sup>1</sup>.** Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular y Laboratorio de Investigación en Perinatología, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>. Patrocinante: López-Lastra, M.

Tanto la expresión del transportador equilibrativo de nucleósidos 1 (hENT1), como su capacidad de captar adenosina son inhibidas por D-glucosa en endotelio de vena umbilical humana (HUVEC). Examinamos el papel del factor de transcripción Sp1 en la actividad del promotor de SLC29A1 (hENT1) en HUVEC. Las células fueron expuestas (24 horas) a D-glucosa 5 ó 25 mM. Se determinó actividad transcripcional del promotor de SLC29A1 (constructos: -1114, -795 pb), niveles nucleares de Sp1 (western blot), sobre-expresión de Sp1 (pCGN-Sp1) y su dominante negativo (pEBG-Sp1ND), unión de Sp1 a la región promotora de SLC29A1 (-815-801 pb, ChIP). D-Glucosa 25 mM y la sobreexpresión de Sp1 disminuyen la actividad transcripcional sólo en células transfectadas con el constructo -1114 pb. D-Glucosa 25 mM aumenta la abundancia nuclear y la unión de Sp1 al promotor de SLC29A1. El dominante negativo de Sp1 bloquea el efecto de D-glucosa. Una represión del promotor de SLC29A1 por Sp1 explicaría la reducción en la expresión y actividad de hENT1 en HUVEC por D-glucosa. CP (DIPUC-VRAID), MF (CONICYT, PUC), FONDECYT 1070865, VRAID BM14,16,2007..

**CLONAMIENTO PARCIAL DE DOS SECUENCIAS CDNA DE LA HEMOCIANINA DEL GASTRÓPODO CHILENO CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS Y LOCALIZACIÓN DEL ÓRGANO RESPONSABLE DE SU BIOSÍNTESIS** (Partial cloning of two cDNA sequences of hemocyanin from Chilean gastropod *Concholepas concholepas* and localization of the organ responsible of its biosynthesis.) **Manubens, A<sup>1</sup>, Haussmann, D<sup>2</sup>, Fuentes, A<sup>1</sup>, Figueroa, J<sup>2</sup>, Huaquin, L<sup>3</sup>, Martínez, J<sup>1</sup>, De Ioannes, A<sup>1</sup>, Venegas, A<sup>4</sup>, De Ioannes, P<sup>5</sup>, Becker, M<sup>5</sup>.** Depto. I&D, Biosonda S.A<sup>1</sup>, Instituto de Bioquímica, U. Austral<sup>2</sup>, Depto. Ciencias Biol. Animales, U. Chile<sup>3</sup>, Depto. Genética Molecular y Microbiol. Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica<sup>4</sup>, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Santiago Chile<sup>5</sup>.

Las hemocianinas, glicoproteínas encargadas del transporte de oxígeno, en gastrópodos presentan una estructura cuaternaria didecamérica, tipo cilindro hueco, de 8-9 MDa. Cada subunidad (~400 kDa) está constituida por ocho dominios (~50 kDa) denominados unidades funcionales (FU). Cada FU posee dos átomos de cobre unidos por histidinas (sitio A y B) que coordinan una molécula de O<sub>2</sub>. Las hemocianinas actúan como potentes inmunoestimulantes en mamíferos. Estudiamos las propiedades inmuno-bioquímicas de la hemocianina de *Concholepas concholepas*, CCH. A diferencia de otras hemocianinas, CCH es un heterodidecámero conformado por dos subunidades, CCH-A (404 kDa) y CCH-B (351 kDa). Los objetivos fueron: clonar los genes cch, mediante RT-PCR y RACE e identificar el tejido responsable de su biosíntesis, mediante inmunohistoquímica, hibridación in situ y RT-PCR. Se obtuvieron dos secuencias cDNA cch parciales. La primera de 3,04 kpb y comprende dos FUs, más la región 3-UTR. La secuencia deducida fue de 735 aminoácidos, con una masa teórica de 84,9 kDa. El segundo clon de 2,71 kpb, contiene el sitio de Cobre-B, una FU completa y la región 3-UTR. El largo de la proteína fue de 791 residuos y una masa de 90,5 kDa. Se realizó un modelamiento 3-D de una CCH-FU mediante homología con la hemocianina de *Octopus dofleini*, Ogd, mostrando una identidad del 44%. Finalmente, se identificó al hepatopáncreas como el órgano responsable de su biosíntesis. Este es el primer paso para conocer la estructura génica y expresión de la hemocianina de un molusco chileno. Financiamiento: Fundación COPEC-PUC SC0014, FONDECYT 1050150, PROGRAMA BICENTENARIO 2005..

**EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN DEPENDIENTE DE COBRE ACE1 DE PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM ACTIVA LA TRANSCRIPCIÓN DEL GEN MCO1** (The copper-dependent ACE1 transcription factor from *Phanerochaete chrysosporium* activates the transcription of the MCO1 gene) **Canessa, P<sup>1</sup>, Alvarez, J<sup>1</sup>, Bull, P<sup>1</sup>, Vicuna, R<sup>1</sup>.** Dep. de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

Hemos previamente identificado y caracterizado funcionalmente el factor de transcripción Pc-ACE1 de *P. chrysosporium*. En presencia de cobre, éste activa la transcripción de genes blanco a través de su elemento de respuesta ACE. Sin embargo, el o los genes blanco se desconocen. Una búsqueda in silico permitió identificar un sitio tipo ACE en el promotor del gen mco1 de *P. chrysosporium*, el que codifica uno de los cuatro genes de la familia de las oxidasas multicobre (MCO, multicopper oxidase), los que se encuentran agrupados formando un cluster génico. Dado que en otros organismos el cobre ejerce un efecto a nivel transcripcional en distintos genes que codifican para MCOs, analizamos los niveles de transcrito de dichos genes en cultivos suplementados con cobre. Los resultados muestran un aumento de 4 veces en los niveles de transcrito de mco1. Utilizando un sistema de transcripción-traducción in vitro, sintetizamos Pc-ACE1. Mediante ensayos EMSA demostramos que Pc-ACE1 une de manera específica el elemento ACE identificado en el promotor de mco1. Por último, hemos podido determinar una activación transcripcional in vitro de dicho promotor mediada por Pc-ACE1. Financiamiento: FONDECYT 1070588 e Instituto Milenio (MIFAB)..

**CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE UNA SUBUNIDAD BETA1 DEL CANAL MAXI-K A LA CUAL SE LE ADICIONÓ EL EPITOPE 3XFLAG EN EL EXTREMO C-TERMINAL.** (Functional Characterization of MaxiK Channel beta1 subunit tagged with 3xFLAG epitope at its C-terminus.) **Morera, F<sup>1</sup>, Alioua, A<sup>2</sup>, Kundu, P<sup>2</sup>, Stefani, E<sup>2</sup>, Toro, L<sup>2</sup>, Latorre, R<sup>3</sup>.** Universidad Austral de Chile y Centro de Estudios Científicos<sup>1</sup>, Department Anesthesiology, University of California Los Angeles<sup>2</sup>, Centro de Estudios Científicos<sup>3</sup>.

En la actualidad, entender acabadamente la función de una proteína requiere la determinación de su red de interacciones en la célula. Una primera aproximación a estos estudios lo constituye la técnica de co-inmunoprecipitación (Co-IP), la cual requiere de anticuerpos altamente específicos para la proteína en evaluación. Es por ello, que la dilucidación de las redes de interacción de las subunidades beta1 del canal MaxiK se ha hecho difícil, pues se carece de buenos anticuerpos para estos estudios. Para vencer esta dificultad técnica, hemos contruido una subunidad beta1 a la cual se le adicionó el epítopo 3xFLAG en su extremo carboxilo terminal. Esta estrategia permite el uso de anticuerpos contra este epítopo en estudios de Co-IP. Previo a ellos, se evaluó la funcionalidad de esta subunidad beta1-3xFLAG mediante técnicas bioquímicas, inmunocitoquímicas, y electrofisiológicas. En primer lugar, al transfectar células HEK293T con la subunidad beta1-3xFLAG se pudo detectar, utilizando anticuerpos anti-FLAG, una banda de ~30 kDa (beta1-3xFLAG sin glicosilar) y otra de ~37 kDa (beta1-3xFLAG glicosilada). Además, en este mismo tipo de células, la subunidad beta1-3xFLAG alcanza normalmente la membrana plasmática al ser visualizada mediante inmunocitoquímica. Finalmente la subunidad beta1-3xFLAG produce efectos similares a los de la subunidad beta1 nativa sobre las corrientes macroscópicas del canal MaxiK, como son el enlentecimiento de las cinéticas de apertura y cierre de los canales y cambios en la sensibilidad a Calcio. Financiamiento: Fondecyt 1030830 y 1070049 (RL), NIH HL54970 (LT) y HD046510 (ES), DID-UACH D-2006-10 (FM).

**HRIC-8B ACTUA COMO GEF PARA GALPHAS IN VIVO** (hRIC-8B acts as a GEF for Gs  $\alpha$  in vivo) Pasten, P<sup>1</sup>, Figueroa, M<sup>1</sup>, Olate, J<sup>1</sup>, Hinrichs, M<sup>1</sup>. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

Se ha denominado Ric-8 a una familia de proteínas que presentan actividad GEF sobre las proteínas G heterotriméricas, las cuales se ha visto que cumplen un rol importante en la señalización mediada por G $\alpha$ q y G $\alpha$ s, tanto en la sinapsis neuronal como en embriogénesis. En organismos superiores se han encontrado 2 isoformas para RIC-8: RIC-8A y RIC-8B. Estas proteínas presentan localización citosólica y se ha demostrado que interactúan con diferentes tipos de subunidades G $\alpha$ . Desde el punto de vista de la regulación de la señalización, estas proteínas reconocen la especie monomérica G $\alpha$ GDP, induciendo en ellas el intercambio GDP/TP, de una forma independiente de un complejo hormona receptor, prolongando así tanto la señalización a través de G $\alpha$  como de G $\beta\gamma$ , al impedir la reasociación del heterotrímero. Al respecto, recientemente se ha clonado en nuestro laboratorio un cDNA de cerebro humano que codifica para RIC-8B (hRIC-8B), la cual se ha demostrado que interactúan con G $\alpha$ s y es traslocado a la membrana plasmática en respuesta a la activación de receptores acoplados a Gs. Para confirmar estos estudios, se determinó su función in vivo en células HEK-293T, en presencia de otros componentes de la cascada de señalización de cAMP. Los resultados obtenidos indican que hRIC-8B se comporta como un GEF para Gas, pues potencia el aumento de cAMP producido por el complejo isoproterenol- $\beta$ 2AR. Financiamiento: PROYECTO ANILLO DE INVESTIGACION ACT-44.

**INTERACCIÓN DEL RECEPTOR CLÁSICO DE PROGESTERONA DE OVOCITOS DE XENOPUS LAEVIS CON G $\beta\gamma$** -(The classical progesterone receptor of oocytes *Xenopus laevis* interacts with G $\beta\gamma$ ) Martínez, S<sup>1</sup>, Montecino, M<sup>1</sup>, Hinrichs, M<sup>1</sup>, Olate, J<sup>1</sup>. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica<sup>1</sup>. Las hormonas esteroidales actúan de manera clásica en el núcleo como factores de transcripción dependientes de ligando. Sin embargo, en los últimos años se ha encontrado que las hormonas esteroidales además inician importantes respuestas celulares no genómicas, vía la activación de receptores esteroidales asociados a la membrana plasmática. Un proceso fisiológicamente importante mediado por acción no genómica de la hormona esteroidea progesterona, es la maduración del ovocito de *Xenopus laevis*. Al respecto, importantes evidencias indican que esta hormona actuaría a nivel de la membrana plasmática, promoviendo la reanudación de la primera división meiótica del ovocito. Uno de los primeros hallazgos observados, luego de la estimulación de los ovocitos con progesterona, es la inhibición de adenilil ciclasa y una disminución de los niveles de AMPc intracelulares. Al respecto, se conoce que los responsables de mantener la detención meiótica es la continua señalización de G $\alpha$ s y G $\beta\gamma$  sobre la adenilil ciclasa VII, sin embargo se desconoce el mecanismo por el cual la hormona esteroidea interfiere con la señalización de G $\alpha$ s - G $\beta\gamma$  sobre la adenilil ciclasa VII. Utilizando una estrategia de purificación por afinidad en tandem (TAP-TAG) hemos identificado la proteína G $\beta\gamma$  asociada con el xPR-1. Esta asociación se confirmó por ensayos de coinmunoprecipitación. Proyecto CONICYT ANILLO PBCT ACT 44.

## MICROBIOLOGÍA

**IDENTIFICACIÓN DE UN INHIBIDOR TRADUCCIONAL DEL IRES DE HIV-1.** (Identification of a Translational inhibitor of HIV-1 IRES activity) Rivas, A<sup>1</sup>, Rodríguez, F<sup>2</sup>, Vollrath, V<sup>1</sup>, Huidobro-Toro, J<sup>2</sup>, López-Lastra, M<sup>3</sup>, López-Lastra, M<sup>1</sup>. Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>, Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>3</sup>.

El mRNA completo del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (HIV-1), que codifica para las proteínas estructurales Gag y Gag-Pol, posee en su región 5' no traducida un sitio interno de entrada del ribosoma (IRES). El IRES permite reclutar la maquinaria traduccional de manera independiente a la estructura 5' cap (m7GpppN) del mRNA. Los mecanismos moleculares que regulan el reclutamiento del complejo de iniciación por parte del IRES de HIV-1 son desconocidos. Sin embargo, existen evidencias que sugieren que el IRES de HIV-1 requiere de proteínas celulares para regular su actividad. Por ejemplo: a) La actividad del IRES es mayor durante el arresto en la etapa G2M del ciclo celular y b) El IRES es parcialmente inactivo en lisado de reticulocitos de conejo (RRL), pero su actividad incrementa al complementar el RRL con extractos de células HeLa arrestadas en G2M. Utilizando el sistema de complementación de RRL con extractos de células HeLa, hemos determinado in vitro que la proteína human HuR inhibe la actividad del IRES de HIV-1. Además, en ensayos ex vivo utilizando líneas celulares y ovocitos de *Xenopus laevis* mostramos que la proteína HuR es capaz de inhibir la actividad del IRES de HIV-1. En conclusión, se ha identificado una proteína que es capaz de regular de manera negativa la traducción dependiente del IRES de HIV-1. Financiamiento: FONDECYT 1060655; JEA1-IRD. AR es becaria DIPUC. MLL es miembro del Núcleo Milenio NMII.

**BTUE DE E. COLI, UN DETERMINANTE DE RESISTENCIA FRENTE AL ESTRÉS OXIDATIVO GENERADO POR TELURITO DE POTASIO.** (E. coli btuE, a resistance determinant against potassium tellurite-generated oxidative stress.) Arenas, F<sup>1</sup>, Perez, J<sup>1</sup>, Sandoval, J<sup>1</sup>, Covarrubias, P<sup>1</sup>, Vasquez, C<sup>1</sup>. Laboratorio Microbiología Molecular, Departamento de Biología, Facultad Química y Biología, USACH<sup>1</sup>.

Estudios realizados en nuestro laboratorio demostraron que células de E. coli tratadas con K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> presentan un aumento en especies reactivas de oxígeno (ROS) a nivel citoplasmático, principalmente radical superóxido, generando un estrés de tipo oxidativo. La búsqueda de determinantes de resistencia a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> en E. coli permitió detectar una putativa glutatión peroxidasa, codificada por el gen btuE. Para determinar si BtuE genera resistencia frente a estrés oxidativo se realizaron experimentos utilizando cepas mutantes en btuE. Estas presentaron mayor sensibilidad a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> y a otros agentes generadores de estrés oxidativo que la cepa parental. Se detectó además un aumento en los niveles de ROS citoplasmáticos, enzimas antioxidantes y acumulación de productos derivados de daño oxidativo como son la oxidación de proteínas citoplasmáticas y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs). La complementación génica de la cepa mutante en btuE o la sobreexpresión de btuE en la cepa parental restauran y generan un aumento de la resistencia de ésta a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> y a los agentes generadores de ROS, respectivamente. Por otra parte, la sobreexpresión de btuE genera una disminución en la acumulación de productos derivados del daño oxidativo y en el sistema de defensa enzimático antioxidante. Estos resultados permiten concluir que btuE de E. coli es un determinante de resistencia frente a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> y otros compuestos generadores de ROS. Financiamiento Fondecyt 1060022 y Dicyt-USACH.

**PARTICIPACIÓN DE RPOS DE *SALMONELLA TYPHI* EN LA RESPUESTA A ESTRÉS** (The RpoS factor of *Salmonella Typhi* in the stress response.) Castillo, M<sup>1</sup>, Castro, D<sup>2</sup>, Retamal, P<sup>2</sup>, Fuentes, J<sup>2</sup>, Mora, G<sup>3</sup>. Universidad Andrés Bello, Becario CONICYT<sup>1</sup>, Pontificia Universidad Católica de Chile, Becarios PUC<sup>2</sup>, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello<sup>3</sup>.

El factor sigma alternativo RpoS es un regulador global de la expresión génica bacteriana y un importante factor transcripcional en la respuesta a estrés en diversos patógenos. En *Salmonella Typhimurium* participa tanto en el proceso de invasión como en la supervivencia intracelular. En condiciones de laboratorio este regulador no es esencial, por lo que es indispensable comprobar su funcionalidad al evaluar la respuesta bacteriana al estrés. **Objetivo:** caracterizar la participación de RpoS de *Salmonella Typhi* en la respuesta a condiciones de estrés asociadas a patogenicidad. **Métodos:** se trabajó con la cepa *S. Typhi* STH2370, la mutante rpoS::pRR10 y las cepas complementadas. Se evaluó supervivencia frente a estrés oxidativo por radicales de O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>, hiperosmolaridad, hambruna y crecimiento en pH 7 y pH 5. **Resultados:** Al evaluar la supervivencia de las cepas frente a condiciones de estrés se observaron notorias diferencias entre aquellas que poseen y aquellas que carecen de RpoS. El crecimiento a pH neutro no mostró diferencias mientras que a pH ácido se observó un mayor crecimiento de aquellas cepas que carecen de RpoS. **Conclusión:** RpoS es un regulador trascendental para la supervivencia de *S. Typhi* en diferentes condiciones de estrés asociadas al proceso de infección. **Agradecimientos:** Al Dr. Stanley Maloy por facilitarnos gentilmente algunas cepas. Trabajo financiado por proyecto FONDECYT 1060999.

**EFFECTO CITOTÓXICO DE LA MUTANTE Q8H DE LA MICROCINA E492 SOBRE LÍNEAS TUMORALES MURINA Y HUMANAS** (Cytotoxic effect of Q8H microcin E492 mutant on murine and human tumoral cell lines) García, V<sup>1</sup>, Soto, C<sup>2</sup>, Monasterio, O<sup>1</sup>, Lagos, R<sup>1</sup>. 1Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>, 1Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile; 2University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA<sup>2</sup>.

La microcina E492 es una bacteriocina formadora de poros que es activa sobre cepas de Enterobacteriaceae y que también es tóxica sobre algunas líneas celulares animales. Esta microcina es capaz de formar fibras amiloide y la formación de estas fibras se correlaciona con la pérdida de su actividad bactericida. Las fibras amiloide están involucradas en la producción de variadas enfermedades, y se ha asociado la producción de fibras de proteínas específicas con efectos tóxicos en un grupo determinado de células. Estudios de nuestros laboratorios determinaron que las fibras amiloide de microcina E492 tienen una mayor toxicidad en líneas celulares tumorales. La mutación puntual Q8H de la microcina E492 produce la pérdida total de la actividad bactericida, lo cual está asociado a una alta tendencia a agregarse y formar fibras de tipo amiloide respecto de la tipo silvestre. Estas características fueron estudiadas mediante cinéticas de agregación seguida por ensayos de unión a tioflavina T, y caracterización de la morfología de las fibras por microscopía electrónica. Adicionalmente, mediante ensayos de viabilidad celular, se estableció que esta mutación produce un aumento en la toxicidad de esta microcina sobre la línea celular tumoral murina B16 y sobre líneas tumorales humanas, tanto de carcinoma de colon (HT29 y HCT116) como de cáncer de páncreas (BxcP3). Estos hallazgos hacen muy atractiva la aplicación de este amiloide natural como agente antitumoral. Financiado en parte por FONDECYT 1061128.

**ANÁLISIS GENÉTICO DEL CATABOLISMO DE HIDROXIFENILACETATOS EN CUPRIAVIDUS NECATOR JMP134: IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS GENES QUE CODIFICAN POR MONOOXIGENASAS DE COMPUESTOS AROMÁTICOS** (Genetic analysis of hydroxyphenylacetate catabolism in *Cupriavidus necator* JMP134: Identification of new genes coding for monooxygenases of aromatic compounds) Pérez-Pantoja, D<sup>1</sup>, González, B<sup>1</sup>. Depto. Genética Molecular y Microbiología, P. Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>. *C. necator* JMP134 posee una excepcional capacidad para degradar compuestos aromáticos. La degradación de 2-, 3-, y 4-hidroxifenilacetato (HFA) se inicia presumiblemente por la acción de monooxigenasas capaces de transformar estos compuestos en homogentisato, intermediario que es canalizado hacia el ciclo de Krebs permitiendo a esta bacteria utilizar los HFA como única fuente de carbono. La identidad de los genes responsables de codificar las enzimas 2-HFA 5-hidroxilasa (2HFA5H), 3-HFA 6-hidroxilasa (3HFA6H) y 4-HFA 1-hidroxilasa (4HFA1H) es desconocida en microorganismos. Con el objeto de identificar estos genes en *C. necator* JMP134 se diseñó un microarreglo subgenómico incluyendo principalmente secuencias de genes catabólicos. El perfil de expresión diferencial en respuesta a cada HFA mostró la inducción de al menos un gen codificando para una monooxigenasa, para cada HFA. Mediante inactivación de cada gen por intercambio alélico fue posible comprobar su rol clave en la degradación de HFAs en *C. necator* JMP134. Por otra parte, la expresión heteróloga de cada gen en *Pseudomonas putida* KT2440, permitió que los derivados recombinantes fueran capaces de utilizar HFAs como sustrato de crecimiento. En conjunto, estos resultados permiten asignar la función de 2HFA5H, 3HFA6H y 4HFA1H a los genes designados como ohaA, mhaA y phaA, respectivamente. Financiado por FONDECYT 1030493, 1070343 y la Iniciativa Milenio a través del NM-EMBA.

**PARTICIPACIÓN DE DOS POSIBLES TIOSULFATO QUINONA OXIDOREDUCTASAS EN EL METABOLISMO OXIDATIVO DEL TIOSULFATO DE *ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS*.** (Participation of two putative thiosulfate quinone oxidoreductases in the oxidative thiosulfate metabolism of *Acidithiobacillus ferrooxidans*) Valenzuela, L<sup>1</sup>, Jerez, C<sup>1</sup>. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología, Instituto Milenio ICDB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

*Acidithiobacillus ferrooxidans* es una bacteria quimiolitotrófica de importancia en biominería, ya que posee la capacidad de solubilizar los sulfuros metálicos durante su metabolismo oxidativo. Se ha propuesto que el tiosulfato es uno de los intermediarios claves durante la oxidación de los sulfuros metálicos. En los microorganismos quimiolitotróficos el tiosulfato es oxidado a tetratiónato por la enzima tiosulfato deshidrogenasa (TD). La tiosulfato quinona oxidoreductasa (TQO) aislada desde la arquea *Acidianus ambivalens*, es la única TD de secuencia conocida que posee una actividad asociada a la membrana. El genoma de *A. ferrooxidans* codifica para dos posibles TQO. Para determinar la fracción celular en que se encuentra la actividad, ésta se midió en distintas fracciones proteicas. Por otro lado, se midió la expresión de los transcritos de las dos posibles TQO, mediante estudios de RT-PCR y PCR en tiempo real en diferentes condiciones de crecimiento. Se encontró que la actividad TD estaría asociada tanto a la fracción soluble como a la fracción de membrana. Adicionalmente, estudios de expresión transcripcional mostraron que los genes que codifican para las posibles TQO de *A. ferrooxidans* se expresan, y que los niveles de ambos transcritos son mayores en las células crecidas en compuestos reducidos de azufre que en las crecidas en ion ferroso. Por lo tanto, la actividad TD detectada en la fracción de membrana de *A. ferrooxidans* podría deberse a la expresión de estas proteínas. Estos resultados sugieren un papel central para la TQO en el metabolismo oxidativo del tiosulfato de *A. ferrooxidans*. FONDECYT 1030767.

**PREDICCIÓN BIOINFORMÁTICA PRECISA REVELA INESTABILIDAD DE MÚLTIPLES ISLAS GENÓMICAS EN EL GENOMA DE BRUCELLA**

Accurate bioinformatic prediction reveals instability of multiple genomic islands in Brucella genome) Mancilla, M<sup>1</sup>, Lopez-Goni, P., Zarraga, A. Universidad Austral de Chile<sup>1</sup>, Universidad de Navarra<sup>2</sup>.

Often, bacterial genomes harbor genes grouped in particular clusters called genomic islands (GIs). These regions code important genes, useful to adapt the pathogen to hostile environments, to infect the host or for the establishment of symbiotic association. Brucella is a bacterial intracellular parasite that can survive inside macrophages, producing brucellosis. To search for GIs in the Brucella genome, we have performed a bioinformatic prediction analysis on the B. abortus 9-941 annotated sequence. Several loci with GI genomic signature, GC content deviation and flanked by direct repeats were found. The presence of these sequences were confirmed in a panel of Brucella reference strains, using PCR, cloning and sequence analysis. The results evidenced the presence of GIs in the Brucella genome and more interestingly, it is reported for the first time the formation of multiple unstable excision circular intermediates (CIs). We suggest that the site-specific recombination activity of cognate integrases carried on the GIs, might be playing an important role in remodeling the Brucella genome for survival. Expression analysis is currently being done to understand the functional significance of the CIs production. Funded by DID UACH D-2005-17 and FONDEF D0211111 grants.

**PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD TELURITO REDUCTASA DE UNA CEPA SILVESTRE DE AEROMONAS SPP.**

(Purification and characterization of a tellurite reductase from a wild strain of Aeromonas spp.) Castro, M<sup>1</sup>, Molina, R<sup>1</sup>, Vasquez, C<sup>1</sup>. Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, USACH<sup>1</sup>. El telurito de potasio (K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>) es altamente tóxico para la mayoría de los seres vivos y en especial, para las bacterias Gram negativas. Sin embargo, se desconocen los mecanismos moleculares que desencadenan dicha toxicidad. Aunque se han identificado algunos determinantes de resistencia a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> en diferentes especies bacterianas, aun no se ha podido establecer un mecanismo único de resistencia debido a que los determinantes identificados presentan una gran diversidad estructural y funcional. Lo anterior ha llevado a sugerir que el fenómeno de resistencia es más bien una respuesta de carácter multifactorial que involucra diferentes vías metabólicas. Utilizando medios de cultivo suplementados con K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> se aisló una cepa de Aeromonas spp. denominada ST, que es altamente resistente a este tóxico. Extractos crudos de esta bacteria catalizan la reducción de K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> in vitro. A partir de ellos se obtuvo fracciones con actividad telurito reductasa. Utilizando electroforesis SDS-PAGE se detectó en estas fracciones la presencia de 3 polipéptidos asociados con la actividad. Dos de ellos de 97 y 50 kDa, fueron identificados como los componentes E1 y E3 del complejo piruvato deshidrogenasa de Aeromonas hydrophila, apoyando la idea que la resistencia a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> estaría dada por una respuesta celular multifactorial. Financiamiento: Fondecyt 1060022 y Dicyt-USACH.

**EFICIENCIA TRADUCCIONAL DE IRES DE HCV AISLADOS DE PLASMA DE PACIENTES CRONICAMENTE INFECTADOS**

(Translation efficiencies of HCV IRESes isolated from plasma samples of chronically infected patients) Barría-Cárcamo, M<sup>1</sup>, Vera-Otarola, J<sup>1</sup>, León, U<sup>1</sup>, Vollrath, V<sup>1</sup>, Soza, A<sup>2</sup>, López-Lastra, M<sup>1</sup>. Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>.

El virus de la hepatitis C (HCV) es un virus de RNA de hebra positiva con envoltura, que pertenece a la familia Flaviviridae. HCV inicia la traducción de su poliproteína vía un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES). En este estudio se analizó la actividad traduccional de IRESes aislados a partir de muestras clínicas. Los IRESes recuperados se clonaron en un vector bicistrónico dual luciferasa y los RNA bicistrónicos generados se utilizaron en experimentos de traducción in vitro. Los resultados muestran que el genotipo 1b es prevalente entre los pacientes estudiados y que la mayoría de los IRESes recuperados presenta actividad traduccional. Posteriormente, se seleccionaron aquellos IRES con baja actividad relativa con respecto a un IRES 1b wild-type (wt). Para establecer si la actividad traduccional observada en los IRES aislados se asocia a cambios nucleotídicos particulares, se procedió a realizar experimentos de mutagénesis sitio dirigida sobre un IRES 1b wt. Así, se identificaron mutaciones capaces de inhibir la actividad del IRES de HCV. Al someter los IRES mutantes a un estudio de single-strand conformational polymorphism (SSCP) se observó que la mayoría de las mutaciones modifican la estructura del IRES. Sin embargo, también se encontraron mutaciones capaces de inhibir la actividad del IRES sin modificar su estructura. A partir de este estudio se concluye que no sólo la estructura es importante para la actividad IRES de HCV. Financiamiento: FONDECYT 1050782, JEA-IRD. MIB es Becaria CONICYT e IRD. JVO es becario MESESUP USACH, MLL es miembro del NMII.

**SELECCIÓN GENÉTICA DE HCV LE CONFIERE CAPACIDAD DE PERSISTIR EN PBMC**

(Genetic selection from HCV confer capacity to persist in PBMC) Vera-Otarola, J<sup>1</sup>, León, U<sup>2</sup>, Barría-Cárcamo, M<sup>2</sup>, Marsac, D<sup>2</sup>, Vollrath, V<sup>1</sup>, Soza, A<sup>3</sup>, López-Lastra, M<sup>2</sup>. Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>3</sup>.

El virus de la hepatitis C (HCV) es principalmente hepatotrópico sin embargo, diversos estudios sugieren la posibilidad de replicación viral en células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Basados en estas observaciones se realizó un estudio en pacientes chilenos infectados con HCV para determinar cuantos exhiben HCV en plasma y en PBMC. Los resultados muestran que de 47 pacientes estudiados el 77% presenta virus en ambos compartimentos. El RNA viral fue amplificado y secuenciado. Se confeccionaron árboles filogenéticos con las secuencias de la región 5 no traducida (UTR) y la región codificante para la proteína NS5B. Los amplicones de ambas regiones fueron sometidos a ensayos de SSCP (single strand conformation polymorphism). Los resultados confirman al genotipo 1b como prevalente en la población estudiada y demuestran diferencias genéticas importantes entre el virus aislado desde plasma con respecto al presente en PBMC de un mismo paciente. Al comparar el patrón SSCP de la región 5 UTR de los diferentes aislados se observa que el RNA viral aislado desde plasma y PBMC de pacientes que presentan HCV en ambos compartimentos exhibe un patrón homogéneo. Sin embargo, el RNA viral aislado de pacientes que sólo presentan HCV en plasma, exhiben un patrón variable. Por lo tanto, nuestras observaciones describen la presencia de mutaciones adaptativas que permiten que sólo ciertas cuasiespecies de HCV sean capaces de persistir en los PBMC. JVO y UL igual contribución. Financiamiento: FONDECYT 1050782; JEA-IRD. JVO es Becario Mecesup USACH. MIB es Becaria CONICYT e IRD. MLL y DM son miembros del NMII.

## BIOINFORMÁTICA, ENZIMAS

**OPTIMIZACIÓN DE ALGORITMOS DE PREDICCIÓN PARA SEGMENTOS TRANSMEMBRANA Y CONSTRUCCIÓN DE MODELOS TRIDIMENSIONALES EN PROTEÍNAS PERTENECIENTES A LA SUPERFAMILIA DE FACILITADORES PRINCIPALES** (Algorithm optimization for prediction of transmembrane segments and 3D modeling of proteins of the major facilitator superfamily) Salas-Burgos, A<sup>1</sup>, Zuñiga, F<sup>1</sup>, Ormazabal, V<sup>1</sup>, Aylwin, C<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>, Vera, J<sup>1</sup>. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

Las proteínas de membrana representan alrededor del 30% del producto de los genes y son los principales blancos de drogas contra las enfermedades de mayor impacto en la población, sin embargo menos de un 5% de las coordenadas tridimensionales son conocidas. Una estrategia es realizar análisis de secuencias y predecir por homología las coordenadas de una proteína. Una primera etapa es la predicción de los segmentos transmembrana (STM), los programas-algoritmos existentes poseen problemas en la predicción de más de 7 STM y subpredicen los largos de las hélices a ventanas de 17-19 residuos. Hemos construido un algoritmo de predicción de segmentos transmembrana optimizado para proteínas de la Superfamilia de Facilitadores Principales (MFS) con más de 10 STM y hélices de hasta 32 residuos, basados en criterios de conservación filogenética, modelos escondidos de Markov y optimización de momentos hidrofóbicos-hidrofobicidad. Además, optimizamos la búsqueda de templados y la búsqueda de un alineamiento adecuado para la construcción de un modelo tridimensional por homología. Evaluamos nuestra aplicación utilizando como caso de estudio la construcción de modelos de la familia de transportadores facilitativos de glucosa (GLUTs). Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT-28.

**VISUALDEP: UNA HERRAMIENTA PARA VISUALIZAR DIFERENCIAS ELECTROESTÁTICAS ENTE DOS ESTADOS DE UNA PROTEÍNA, APLICADO A ARGINASA Y FICOBILIPROTEÍNAS** (VisualDEP: a tool for the visualization of electrostatics differences between two state of a protein, applied to Arginase and Phycobiliproteins.) Jaña-Pérez, N<sup>1</sup>, Bunster, M<sup>1</sup>, Martínez-Oyanedel, J<sup>1</sup>. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

El potencial electrostático (PE) juega un rol importante en el plegamiento, estabilidad y función de las proteínas y en las interacciones proteína-proteína. Los potenciales pueden ser calculados normalmente usando directamente la ecuación de Coulomb o la solución a la ecuación de Poisson-Boltzman. Los potenciales electrostáticos son usualmente visualizados como un mapa de superficie molecular. No existen herramientas que permitan caracterizar y visualizar las diferencias entre dos estados de una proteína basados en la comparación de sus potenciales electrostáticos y muchas de las pequeñas diferencias no son claramente detectables a simple vista. VisualDEP involucra, alineamiento estructural previo de los estados de la proteína, cálculo de los PE con APBS para cada estado, cálculo de la diferencias de PE codificado en Perl, obtención del valor de corte para seleccionar las diferencias significativas utilizando clusterización jerárquica basada en Kmeans. El mapa final se produce asignando un valor cero a todos los puntos bajo el umbral correspondiente al límite entre los dos cluster mayores. Esto produce una imagen con la visualización de las diferencias de los potenciales electrostáticos de los dos estados de la proteína. VisualDEP fue usado para estudiar la oligomerización de ficobiliproteínas y arginasas, identificando los cambios en la superficie de interacción durante el proceso. En el caso de la arginasa se comparó la enzima y su mutante N130D, detectándose un cambio importante en el potencial electrostático de la zona donde esta localizada la mutación. Financiamiento DIUC 205037004-10, 207037006-10.

**CAVIDAD INTRACELULAR DEL CANAL DE K<sup>+</sup> HSLO: ROL DE RESIDUOS HIDROFÓBICOS EN LA CONDUCTANCIA DE IONES K<sup>+</sup>** (Intracellular hSlo channels vestibule: Critical role of hydrophobic residues in the K<sup>+</sup> ions conductance) Vidal, M<sup>1</sup>, Urbina, H<sup>2</sup>, González, W<sup>2</sup>, Carvacho, I<sup>3</sup>, Latorre, R<sup>4</sup>, Gonzáles-Nilo, F<sup>2</sup>. Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca. Universidad Austral de Chile, Valdivia<sup>1</sup>, Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca<sup>2</sup>, Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo 514, Valdivia y Universidad Austral de Chile, Valdivia.<sup>3</sup>, Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo 514, Valdivia.<sup>4</sup>. Los canales de potasio (K<sup>+</sup>) poseen un motivo estructural (GYGD o filtro de selectividad) que selecciona K<sup>+</sup> por sobre otros cationes monovalentes. Se estudió el canal de K<sup>+</sup> humano dependiente de voltaje y de Ca<sup>++</sup> intracelular hSlo (250 pS). Se examinó la estructura de hSlo buscando residuos claves en el vestíbulo intracelular que explicaran esta alta conductancia. Se determinó que un residuo de fenilalanina (F380), situado en el vestíbulo intracelular, es clave en la conducción del ión. En base a los datos experimentales previos, se propuso generar una mutante para este residuo F380I. Una vez generada la mutante en un modelo molecular de hSlo, se procedió a analizar la energía libre mediante simulaciones de dinámica molecular dirigida (SMD). La metodología de SMD aplica vectores de fuerzas externas dependientes del tiempo a uno o más átomos en un sistema molecular. Estas simulaciones, permiten obtener un perfil de energía libre a lo largo de una coordenada de reacción (PMF). Los resultados de dinámica molecular muestran que el aminoácido Phe380 desestabiliza la primera esfera de solvate de los iones K<sup>+</sup> en tránsito, contribuyendo este residuo en un pasaje más rápido para el ión entre el filtro de selectividad y el vestíbulo intracelular, por lo tanto la conductancia será mayor en los canales donde se presente este residuo. Agradecimientos: Fondecyt # 1040254, PBCT ACT24 (FGN), Fondecyt # 1030830 (RL).

**MUTACIONES EN EL SITIO ACTIVO DE LA AGMATINASA DE ESCHERICHIA COLI: GENERACIÓN DE ESPECIES QUIMÉRICAS** (Mutations in the active site of Escherichia coli agmatinase: chimeric species) Orellana, M<sup>1</sup>, Mella, C<sup>1</sup>, Uribe, E<sup>1</sup>, Carvajal, N<sup>1</sup>. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

La arginasa (EC 3.5.3.1) y la agmatinasa (EC 3.5.3.11) catalizan la hidrólisis de sustratos guanidínicos (arginina y su derivado descarboxilado agmatina, respectivamente). Ambas generan urea como uno de los productos, requieren de manganeso y sus secuencias muestran residuos altamente conservados y funcionalmente equivalentes. Sin embargo, son altamente específicas para sus respectivos sustratos. Sus estructuras difieren significativamente en la extensión de un lazo ubicado a la entrada del sitio activo y que, en el caso de la arginasa, se ha asociado a la interacción con el grupo alfa-carboxilo del sustrato. Para analizar la participación del lazo respectivo en la funcionalidad y especificidad de sustrato de la agmatinasa de E. coli, realizamos mutaciones seriadas, reemplazando algunos residuos por los correspondientes en la secuencia de la arginasa, hasta obtener una especie quimérica. Todas las especies presentaron una disminución de unas 5 veces en la kcat y aumentos importantes en el valor de Km (40 veces en el caso de la quimera). Los cambios no alteraron la especificidad de la agmatinasa, que siguió siendo activa sólo con agmatina. Los resultados contrastan con los obtenidos para especies equivalentes de arginasa, que adquieren la capacidad de utilizar agmatina como sustrato.

**CONTROL DEL FLUJO EN LA SÍNTESIS DE GLICÓGENO:**

**HEXOXQUINASA VERSUS GLICÓGENO SINTASA** (Flux control in glycogen synthesis: hexokinase versus glycogen synthase) Wilson, C. Preller, A<sup>1</sup>, Ureta, T<sup>1</sup>. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>. Tradicionalmente se ha considerado a la glicógeno sintasa como la enzima limitante o marcapaso que controla la síntesis de glicógeno, ello principalmente porque ésta presenta importantes propiedades regulatorias. La glucosa-6P es un activador alostérico de la glicógeno sintasa, y además ésta puede ser activada o inactivada por desfosforilación-fosforilación, respectivamente. La aplicación de los postulados del Análisis del Control Metabólico al estudio del control del flujo en la síntesis de glicógeno ha puesto en duda el papel de la glicógeno sintasa como enzima reguladora de la vía. Para aclarar este problema, hemos estudiado en oocitos de rana in vivo el control que ejercen sobre la vía de síntesis de glicógeno todas las enzimas participantes. El control que ejerce una enzima sobre el flujo se cuantifica determinando el valor del coeficiente de control del flujo para esa enzima. Para ello es necesario variar la actividad de la enzima y estudiar el efecto de este cambio sobre el flujo. Las enzimas fosfoglucomutasa y JDPG-pirofosforilasa no ejercen un control significativo sobre el flujo de la vía (coeficientes de control 0,20 y 0,15, respectivamente). Al variar en los oocitos por microinyección de enzimas puras la actividad endógena de hexoquinasa y de glicógeno sintasa, hemos encontrado valores para el coeficiente de control iguales a 0,52 para la primera y 0,01 para la última. Ello muestra claramente que es la hexoquinasa, y no la glicógeno sintasa, la enzima que controla el flujo por la vía de síntesis de glicógeno. Fondecyt 1040886.

**IMPORTANCIA DE LA ARGININA-308 EN LAS PROPIEDADES CINÉTICAS Y EL ESTADO DE OLIGOMERIZACIÓN DE LA ARGINASA HUMANA TIPO I** (Importance of Arg-308 in the kinetic properties and oligomeric state of human arginase I) Uribe, E<sup>1</sup>, Melo, L<sup>1</sup>, Enriquez, S<sup>1</sup>, Orellana, M<sup>1</sup>, García, D<sup>1</sup>, Carvajal, N<sup>1</sup>. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

La estructura cristalográfica de la arginasa tipo I sugiere que en la estabilización del estado oligomérico participa la Arg-308. Este residuo se ubica en la interface entre los monómeros, al comienzo de un motivo en forma de S, que hemos propuesto como esencial para las propiedades cooperativas y alostéricas de la enzima. Para evaluar el rol de la Arg-308, la reemplazamos por alanina en la arginasa humana y caracterizamos tanto las propiedades cinéticas como la composición de subunidades de la mutante. Esta resultó ser monomérica (34 kDa) y, a diferencia de la enzima silvestre, fue activada por concentraciones de clorhidrato de guanidina (Gdn<sup>+</sup>) < 5 mM, especialmente a pH 7.5. La agmatina, análogo de L-arginina, no tuvo ningún efecto activador. A concentraciones altas (> 40 mM) y, como era de esperar para un análogo del producto urea, Gdn<sup>+</sup> inhibió competitivamente a ambas especies. En presencia de concentraciones activadoras de Gdn<sup>+</sup>, la mutante R308A recuperó su estado oligomérico, mientras que la enzima silvestre no fue afectada. Los resultados apoyan un rol estructural para el grupo guanidino de la Arg-308. Como hipótesis, sugerimos que Gdn<sup>+</sup> imitaría a este grupo en sus interacciones. FONDECYT 1070467- DIUC 205.037.003-1.0.

**ESTUDIO DE CARACTERÍSTICAS ENERGÉTICAS EN ZONAS DE INTERACCIÓN PROTEÍNA-PROTEÍNA PARA IDENTIFICAR INTERACCIONES TRANSITORIAS Y PERMANENTES**

(Study of the energetic characteristics in protein-protein interaction interfaces to identifying transient and obligate protein-protein complexes) Gutiérrez, T<sup>1</sup>, Martínez-Oyanedel, J<sup>2</sup>, Bunster, M<sup>2</sup>, Rueda, L<sup>1</sup>. Depto. de Informática. Facultad de Ingeniería. Universidad de Concepción<sup>1</sup>, Depto. Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción<sup>2</sup>.

La mayoría de los procesos biológicos dependen de interacciones entre proteínas, sean estas permanentes o de corta duración. Las interacciones entre proteínas han sido extensamente estudiadas pero aun no es posible predecir exitosamente las posibles zonas de interacción de una proteína con otra, asimismo no es posible predecir la estabilidad de la interacción. En el presente proyecto se trata de identificar características de interfaces de interacción proteína-proteína, que permitan diferenciar entre interacciones transientes y permanentes. Se trabajó con una base de datos de 296 complejos para los cuales se conoce su estructura tridimensional y clasificación en interacciones transientes y permanentes. Para cada una de las superficies se determinó la contribución energética electrostática y de desolvatación, utilizando el programa Fastcontact, obteniéndose 642 características por complejo, las cuales se procesan utilizando un algoritmo de selección de características (forward search) en conjunto con la distancia de Chernoff para evaluar la posibilidad de separación de las clases a través de un ranking de las más influyentes en la interacción. Para estudiar la precisión en la clasificación, se utilizaron métodos de reducción lineal de dimensiones (Loog-Duin, Rueda-Herrera) combinados con un clasificador Bayesiano, y además se usó una máquina de soporte de vectores. La selección realizada utilizando en conjunto el algoritmo forward search y la distancia de Chernoff alcanzó una alta precisión. El análisis de las mejores características discriminantes muestra que la energía de desolvatación contribuye por sobre la energía electrostática a la separación de clases. Financiamiento Fondecyt 1060904, DIUC 205037004-10, 207037006-10.

**POTENCIALES ESTADÍSTICOS PARA LA EXTRACCIÓN DE INFORMACION RELEVANTE A PARTIR DE LA GRAN ABUNDANCIA Y REDUNDANCIA DE DATOS EXISTENTES**

(STATISTICAL POTENTIALS FOR RELEVANT INFORMATION EXTRACTION FROM THE CURRENTLY ABUNDANT AND REDUNDANT DATABASES) Slater, A<sup>1</sup>, Norambuena, T<sup>1</sup>, Martínez, P<sup>1</sup>, Pérez, N<sup>1</sup>, Echague, A<sup>1</sup>, Castellanos, J<sup>1</sup>, Panjkovich, A<sup>1</sup>, Ferrada, E<sup>1</sup>, Melo, F<sup>1</sup>. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>. Los potenciales estadísticos constituyen una poderosa herramienta que cuando se aplica sobre datos experimentales permite la extracción de información útil acerca de la relación secuencia-estructura-función de un sistema. Los potenciales estadísticos relacionan la probabilidad de ocurrencia de un estado con una energía, a través de la aplicación de la ley inversa de Boltzmann. Esta última se encuentra a su vez estrechamente relacionada con conceptos de información y entropía propuestos por Shannon. En esta comunicación libre se presentarán las distintas aplicaciones de los potenciales estadísticos que se han estado desarrollando en los últimos años en nuestro laboratorio. Estas aplicaciones son variadas e incluyen: 1) la predicción de estructura y función de proteínas, 2) la predicción de genes, 3) la predicción de estructura y función en ARN, 4) la predicción de especies y variedades en base a información genómica parcial, y 5) la predicción de autoría de textos en disputa. PROYECTO FONDECYT 1051112.

## GENÉTICA MOLECULAR, BIOMEDICINA, INMUNOLOGÍA

**ANÁLISIS GENÉTICO EN TUMORES DESMOIDES DE PACIENTES CON POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR.** (Genetic analysis in desmoid tumors from patients with familial adenomatous polyposis) Alvarez, K<sup>2</sup>, De la Fuente, M<sup>3</sup>, Wielandt, A<sup>2</sup>, Hevia, M<sup>3</sup>, Orellana, P<sup>3</sup>, Oyarzo, M<sup>4</sup>, Lopez-K, F<sup>2</sup>, Carvallo, P<sup>3</sup>. Departamento de Cirugía Digestiva, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Unidad de Coloproctología, Clínica Las Condes, Santiago-Chile<sup>2</sup>, Depto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas<sup>3</sup>, Depto. Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>4</sup>

Los pacientes con poliposis adenomatosa familiar (PAF) presentan, además de neoplasias en el colon y recto, tumores en otros tejidos, entre los cuales los tumores desmoides son los más relevantes ya que constituyen la segunda causa de muerte en estos pacientes. El estudio genético de los tumores colónicos ha demostrado que ocurren alteraciones en genes específicos, en la progresión de la mucosa sana a cáncer colorrectal, sin embargo para los tumores desmoides este conocimiento es escaso. Nos propusimos, 1) determinar la participación de genes específicos en el desarrollo de los tumores desmoides, y 2) determinar alteraciones cromosomales en los tumores desmoides, que nos permitan identificar nuevos genes supresores de tumores. Para ello contamos con 7 biopsias de tumores desmoides a las cuales se les determinó la pérdida de heterocigosidad de los genes APC, DCC y P53 mediante las técnicas de conformómeros de simple hebra (SSCP) y secuenciación de DNA, además de la utilización de marcadores STR. También, se analizó la presencia de mutaciones en el protooncogen k-ras, y la identificación de alteraciones cromosomales utilizando la técnica de microarreglos de DNA por Hibridación Genómica Comparativa (array-CGH). Determinamos que en los tumores desmoides no se observa pérdida de heterocigosidad de los genes APC, DCC y P53, así como tampoco mutaciones en el protooncogen k-ras, como ha sido descrito para el cáncer de colon. Por otro lado, el análisis mediante array-CGH nos ha permitido identificar diversas deleciones genómicas que involucrarían genes supresores de tumores que participan en el desarrollo del tumor. Fondecyt 1040827

**PARTICIPACIÓN DE CÉLULAS NATURAL KILLER EN EL EFECTO INMUNOESTIMULANTE DE HEMOCIANINAS** (Participation of Natural Killer cells in the immunostimulatory effect of hemocyanins) Lagos, L<sup>1</sup>, del Campo, M<sup>1</sup>, Manubens, A<sup>1</sup>, Moltedo, B<sup>2</sup>, De Ioannes, A<sup>1</sup>, Puente, J<sup>2</sup>, Becker, M<sup>2</sup>. Departamento de Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A.<sup>1</sup>, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.<sup>2</sup>, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de Chile<sup>3</sup>.

Las hemocianinas son conocidas por su inmunogenicidad en mamíferos. Las más utilizadas son KLH (*M. crenulata*) y CCH (*C. concholepas*) que aunque difieren en su origen y estructura, tienen similares propiedades inmunostimulantes. Hemos demostrado que en ratones inmunizados con KLH o CCH, hay un perfil tipo Th1 y una mayor actividad de células NK, proponiéndose que inducen señales que promueven inflamación a nivel de la inmunidad innata. Se estudió el efecto de CCH sobre células Natural Killer (NK) de ratones naive, evaluando cambios fenotípicos y funcionales. In vitro se encontró que las células NK incorporan CCH, afectando su maduración, por el predominio de células de gran tamaño a los 7 días. Sin embargo, no se observó efecto en su citotoxicidad ni en los niveles de IFN $\gamma$  medidos a las 24h, a diferencia del LPS, que sí induce aumento. Los resultados fueron complementados, estudiando el efecto de CCH sobre la cinética de producción de mRNA de IFN $\gamma$  a tiempos tempranos. In vivo, también se encontró una subpoblación de NK que incorpora CCH y un aumento de la citotoxicidad a las 24h, sugiriendo que el efecto de CCH sobre NK podría ser mediado por otro tipo celular. Se realizaron co-cultivos in vitro de NKs y DCs con CCH, encontrándose un aumento sostenido de IFN $\gamma$  a partir de las 24h, lo cual no ocurre en cultivos de NK sola, sugiriendo que CCH induce una vía de activación tardía NK-DC dependiente, no mediada por receptores tipo Toll. FONDECYT: 105-0150 y Fundación COPEC-PUC SC0014.

**PANEL DE MUTACIONES DEL GEN DEL RECEPTOR DEL LDL EN PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR** (Panel of Mutations in LDL receptor gene in Familial Hypercholesterolemia patients) Gonzalez, F<sup>1</sup>. Laboratorio de Biología y Genética Molecular, Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso<sup>1</sup>. Patrocinante: Carvallo, P.

La hipercolesterolemia familiar (HF) es una enfermedad hereditaria autosómica dominante con elevación plasmática del colesterol LDL y un alto riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular prematura. Está causada por mutaciones en el gen del receptor de LDL (r-LDL) y actualmente más de 800 mutaciones. Existen recientes estudios genéticos de pacientes chilenos con HF. El objetivo es describir casos de HF con diagnóstico genético y desarrollar un protocolo de base molecular para el diagnóstico de esta enfermedad. 24 pacientes adultos con diagnóstico clínico de HF fueron evaluados para determinar mutaciones o variantes polimórficas mediante SSCP, RFLP y secuenciación automatizada. En 21 pacientes se detectaron 50 variaciones mediante SSCP en los 7 exones estudiados, de éstos se determinaron 10 sustituciones mediante secuenciación automatizada, 6 casos en el dominio de unión al ligando y 4 casos en el dominio transmembranar/itoplasmático; y la mutación p.C74G presente en el exon 3 se determinó directamente mediante RFLP y se observó en 4 casos. Paralelamente 19 pacientes fueron evaluados utilizando el diagnóstico genético basado en DNA-array. Nueve pacientes presentaron mutaciones, la mutación más frecuente fue la G571E (4 casos), dos pacientes presentaron mutación V502M. Un paciente presentó la mutación doble G71E + 313 + 1 G>C, y otro la mutación C74E en el exon 3. Se detectó por primera vez una mutación intrónica 1705 + 1G>A. Un polimorfismo fue detectado en un paciente (940 + 36GA). Estos hallazgos sugieren que la población chilena tiene un espectro heterogéneo de mutaciones en el receptor del LDL que causa HF.

**LA POTENCIACIÓN EN LA PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS BACTERIANOS INDUCIDA POR COMPLEJOS INMUNES REQUIERE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR FCGAMMARIII EN CÉLULAS DENDRÍTICAS** (Immune complex-induced enhancement of bacterial antigen presentation requires FcgammaRIII expression on dendritic cells) Contreras, F<sup>1</sup>, Herrada, A<sup>1</sup>, Tobar, J<sup>1</sup>, Pacheco, R<sup>1</sup>, Kalergis, A<sup>1</sup>. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

Las células dendríticas (DCs) son capaces de iniciar respuestas inmunes adquiridas contra agentes infecciosos mediante la presentación de antígenos derivados de patógenos a linfocitos T vírgenes. Es por este importante rol en la iniciación de respuestas adaptativas que la interferencia de la función de la DC sería ventajosa para la infección. Previamente demostramos que *Salmonella Typhimurium* (ST) virulenta es capaz de sobrevivir en DCs e interfiere con su capacidad de activar linfocitos T específicos. Por el contrario, al dirigir la bacteria a receptores Fcgamma en la DC, ésta es degradada y sus antígenos son presentados a linfocitos T. Sin embargo, dado que la DC expresa el receptor activador FcgammaRIII y el inhibidor FcgammaRIIB, decidimos evaluar el receptor responsable de recuperar la presentación de antígenos. En este trabajo demostramos que ST opsonizada es conducida a degradación lisosomal y sus antígenos son presentados a linfocitos T únicamente cuando el receptor FcgammaRIII se encuentra en la superficie de la DC. Adicionalmente, determinamos que la actividad PI-3K es requerida en este proceso, ya que la inhibición de esta enzima conduce a la sobrevivencia de ST opsonizada en DCs y previene la activación de linfocitos T. Nuestros datos sugieren que la degradación de ST opsonizada y la presentación de sus antígenos a linfocitos T requiere tanto la expresión del receptor FcgammaRIII como la actividad PI-3K en DCs. Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1030557, 1050979, 3070018 y 1070352; INCO-CT-2006-032296 y Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy (P04030-F).

**GENES DE HERENCIA MATERNA QUE CODIFICAN SUBUNIDADES DEL COMPLEJO I MITOCONDRIAL SON DIFERENTES EN RATAS ABSTEMIAS Y BEBEDORAS DE ALCOHOL** (Maternally inherited genes encoding mitochondrial complex I subunits are different in alcohol nondrinker and drinker rats) **González-Martínez, G<sup>1</sup>**, Sapag, A<sup>1</sup>, Encina, G<sup>1</sup>, Lobos-González, L<sup>1</sup>, Quintanilla, M<sup>2</sup>, Tampier, L<sup>2</sup>, Israel, Y<sup>1,3</sup>, Lab de Farmacoterapia Génica, Depto. de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas<sup>1</sup>, Laboratorio de Farmacogenética del Alcoholismo, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina<sup>2</sup>, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Universidad de Chile<sup>3</sup>.

En ratas UChA, seleccionadas por su bajo consumo de alcohol, la capacidad del complejo I mitocondrial de generar NAD<sup>+</sup> a partir del NADH es menor que en ratas UChB, seleccionadas por su gran consumo de alcohol. La disponibilidad del NAD<sup>+</sup> incide en el consumo de alcohol porque es cofactor de las enzimas que lo metabolizan, las deshidrogenasas alcohólica y aldehídica. Las diferencias en el complejo I, al ser heredadas por línea materna, están asentadas en siete genes mitocondriales y dos genes del cromosoma X. Se buscaron los genes responsables de las diferencias bioquímicas amplificando el DNA de cada línea, secuenciando sus genes y comparándolos. Las ratas UChA (n=5) difieren de las UChB (n=5) en seis genes mitocondriales que determinan variaciones en cuatro proteínas. Las subunidades ND2 se diferencian en (UChA/UChB) las posiciones 150 (Ser/Asn), 265 (Thr/Ala), 304 (Met/Thr) y una inserción en la posición 318 (His/-); las subunidades ND4 se diferencian en las posiciones 23 (Thr/Ile) y 419 (Pro/Leu); las subunidades ND5 en la posición 37 (Val/Ile) y las subunidades ND6 en la posición 139 (Val/Ile). Los genes Nd1 y Nd3 sólo tienen diferencias nucleotídicas silentes mientras que el gen Nd4L y las regiones exónicas de los genes nucleares Ndufa1 y Ndufb11 no difieren entre linajes. Los polimorfismos génicos identificados en subunidades del complejo I, especialmente los responsables de variaciones aminoacídicas, pueden establecer nuevos factores de herencia exclusivamente materna que influyen en la capacidad mitocondrial de regenerar el NAD<sup>+</sup> y, por ende, en el consumo de alcohol. (FONDECYT 1050480).

**GENERACION DE INSULINA EN CÉLULAS INTESTINALES: HACIA UNA TERAPIA GÉNICA PARA LA DIABETES.** (Insulin production by intestinal cells: towards a gene therapy for diabetes.) **Encina, G<sup>1</sup>**, Israel, Y<sup>1</sup>. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.<sup>1</sup> **Patrocinante: Sapag, A.** La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) se caracteriza por niveles plasmáticos elevados de glucosa, debido a la destrucción autoinmune de las células beta-pancreáticas. Pacientes con DM1 deben inyectarse insulina, controlar su ingesta de carbohidratos y medir su glicemia periódicamente. Se han desarrollado diversas estrategias para el tratamiento de la DM1, incluyendo el trasplante de páncreas, de islotes de Langerhans o transformación de células troncales en beta-pancreáticas, las que requieren terapias de inmunosupresión por vida. Pese a la aparición reciente de una insulina de liberación lenta, esta no previene la marcada elevación de glicemia postprandial. Las células K enteroendocrinas intestinales son capaces de detectar glucosa intraluminal y liberar en respuesta la hormona GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Peptide) a la circulación. Además, no son destruidas por el sistema inmune del paciente con DM1. Este proyecto desarrolla una estrategia de entrega del gen de la preproinsulina que permita su expresión y liberación postprandial por las células K. Para ello se transfectaron células de la línea enteroendocrina STC-1 con plasmidios portadores del gen de la preproinsulina humana controlado por el promotor de GIP de rata o el promotor del CMV. En ambos se demostró tanto la colocalización de insulina y GIP en vesículas, como la liberación de insulina a un medio que contiene glucosa, siendo 10 veces superior aquella controlada por el promotor del CMV. Posteriormente se investigará el control de la glicemia postprandial en animales pancreatectomizados y transducidos entéricamente con vectores virales (AAV) portadores de las construcciones con el promotor GIP-preproinsulina y CMV-preproinsulina. ICM(P05-001F)..

**DELECIÓN DE GENES SUPRESORES DE TUMOR EN CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO: ANÁLISIS POR MICROARREGLOS DE DNA** (Loss of tumor suppressor genes in hereditary breast cancer: a DNA microarray analysis) **Alvarez, C<sup>1</sup>**, Solís, M<sup>2</sup>, Corvalán, A<sup>2</sup>, Alvarez, M<sup>2</sup>, Rozembum, E<sup>3</sup>, Munroe, D<sup>3</sup>, Carvallo, P<sup>1</sup>. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>, Laboratory of Molecular Technology, SAIC-Frederick Inc., NCI, National Institutes of Health, Frederick, MD, USA<sup>3</sup>.

Un estudio previo realizado en 70 familias con cáncer de mama determinó que cerca del 80% de éstas no presenta mutaciones en los genes BRCA1 o BRCA2. Para buscar otros genes supresores de tumor involucrados en el progreso del cáncer de mama hereditario, analizamos el DNA genómico de biopsias tumorales de 24 pacientes BRCA1 y 3 BRCA2. Realizamos un análisis por array CGH para buscar deleciones genómicas que pudiesen incluir genes supresores de tumor involucrados en el desarrollo del cáncer. Nuestro análisis reveló que el perfil de deleciones es diferente para las biopsias BRCA1 o BRCA2 y está además relacionado al tipo de mutación presente. Las deleciones observadas con mayor frecuencia en el grupo BRCA1 incluyen: 1p12, 1p31, 2q32.3, 3p12, 4p15, 5q13-q15, 6p12, 7q34-q36, 8p22, 10q21-q22, 12q14.3, 13q14 y 13q33. Algunas de estas regiones comprenden genes supresores involucrados previamente descritos en otros tipos de cáncer. El análisis por array CGH mostró deleción de BRCA1 en todas las biopsias de pacientes con mutación en BRCA1 y además, en el 12,5% de los tumores BRCA2; y deleción de BRCA2 en el 67% de los tumores de pacientes con mutación en BRCA2 y en el 25% de las muestras BRCA1. Además, observamos deleción del gen ATM en el 16% de todas las biopsias, incluyendo una BRCA1 y una BRCA2. Estos resultados sugieren que la participación de genes diferentes en el desarrollo del cáncer de mama hereditario entre los pacientes BRCA1 o BRCA2. Financiado por Fondecyt 1040779..

**COMPLEJIDAD DEL METABOLISMO DE VITAMINA C EN CÉLULAS DE CÁNCER PROSTÁTICO** (Complexity of vitamin C metabolism in prostate cancer cells) **Soliz, C<sup>1</sup>**, Villagran, M<sup>1</sup>, Sotomayor, K<sup>1</sup>, Muñoz, C<sup>1</sup>, Barra, V<sup>1</sup>, Vera, J<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>. Universidad de Concepción, Dpto de fisiopatología<sup>1</sup>. **Patrocinante: Vera, J.**

Hemos examinado el metabolismo de vitamina C en células tumorales de próstata sometidas a estrés oxidativo por depleción farmacológica de glutatión y tratamiento con especies reactivas del oxígeno. Experimentos de transporte indican que las células tumorales de próstata adquieren vitamina C reducida (ácido ascórbico) y oxidada (ácido deshidroascórbico). Por otro lado, la acumulación de vitamina C depende fundamentalmente de la presencia de glutatión, y tanto el glutatión como la vitamina C son fundamentales para la defensa al estrés oxidativo. Estudios de RT-PCR revelaron que la ausencia de glutatión provoca cambios en la expresión de reductasas de ácido deshidroascórbico, y células representando diversos grados de progresión tumoral responden diferencialmente tanto a la ausencia de glutatión como al estrés oxidativo. Nuestros resultados indican que el metabolismo de la vitamina C en células tumorales de próstata es regulado por factores tanto intrínsecos como extrínsecos, siendo fuertemente influenciado tanto por interacciones célula-célula como por las características propias de las células tumorales en diversos estadios de la progresión tumoral. Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT28.

# *Paneles*

## ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS, BIOINFORMÁTICA, ENZIMAS

**1. CLONAMIENTO, CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL Y ESTUDIOS DE SOBREENPRESIÓN DE DESHIDROASCORBATO REDUCTASAS DE CELULAS TUMORALES HUMANAS** (Cloning, characterization and expression of human tumor cell deshidroascorbic acid reductase) Jaña, C.<sup>1</sup>, Toro, C.<sup>1</sup>, Zuñiga, F.<sup>1</sup>, Ormazábal, V.<sup>1</sup>, Sotomayor, K.<sup>1</sup>, Vasquez, O.<sup>1</sup>, Vera, J.<sup>1</sup>, Rivas, C.<sup>1</sup>. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

La vitamina C es un nutriente esencial que funciona como antioxidante y cofactor enzimático y puede encontrarse en solución en su forma reducida (ácido ascórbico, AA) u oxidada (ácido deshidroascórbico, DHA). Las células de mamíferos transportan el AA a través de cotransportadores de sodio ascorbato (SVCTs) y el DHA a través de transportadores facilitativos de glucosa (GLUTs). La vitamina C en el organismo se encuentra fundamentalmente en su forma reducida, dado a que el DHA que se genera en reacciones redox se reduce inmediatamente a AA intracelularmente, por un proceso de reciclaje y acumulación, con participación de DHA reductasas. Utilizando RT-PCR hemos establecido la expresión de una gran familia de DHA reductasas en células de cáncer prostático humano. Sin embargo, se desconoce el papel específico de cada una de las reductasas en la acumulación intracelular de elevadas concentraciones de AA. Para establecer este punto, hemos clonado tres DHA reductasas desde las células tumorales de próstata; las enzimas aldolasa reductasa 1C3 (AKR1C3), glutatión S-transferasa omega 1 (GSTO1) y glutaredoxina 1 (Grx1). Hemos construido quimeras reductasa-proteína verde fluorescente y establecido su localización subcelular en células transfectadas, realizado ensayos funcionales de actividad, y estudiado su papel en la acumulación, reciclaje y retención celular de vitamina C, además de su efecto en la resistencia a estrés oxidativo. Los resultados obtenidos confirmaron la expresión citoplasmática de las DHA reductasas y su papel fundamental en el metabolismo de la vitamina C. Financiado por Anillo de Ciencia y Tecnología, ACT-28.

**3. IDENTIFICACION DE DETERMINANTES ESTRUCTURALES IMPORTANTES PARA LA FUNCION DEL COTRANSPORTADOR SODIO-ASCORBATO SVCT2** (Identification of important structural determinant for the function of the ascorbic acid transporter SVCT2) Muñoz, A.<sup>1</sup>, Gatica, M.<sup>1</sup>, Pacheco, C.<sup>1</sup>, Sanchez, L.<sup>1</sup>, Ormazabal, V.<sup>1</sup>, Zuniga, F.<sup>1</sup>, Salas, A.<sup>1</sup>, Rivas, C.<sup>1</sup>, Vera, J.<sup>1</sup>. universidad de concepcion<sup>1</sup>. El ácido ascórbico (AA) es transportado al interior celular por los cotransportadores sodio-ascorbato, SVCT1 y SVCT2, los que transportan el ácido ascórbico utilizando el gradiente electroquímico de sodio. DE este modo, los SVCTs transportan dos sustratos, ácido ascórbico y Na<sup>+</sup>. SVCT1 y SVCT2 presentan un elevado grado de identidad aminoácida (66%), siendo sus extremos amino y carboxilo terminal las regiones de mayor variabilidad entre ellas. SVCT2 es un transportador de alta afinidad para AA (Km = 20 uM) que es activado cooperativamente por iones sodio (Na<sup>+</sup> = 35 mM). Utilizando predicción a partir de un modelo 3D de SVCT2 derivado por homología estructural con el transportador Lac permeasa, hemos reemplazado aminoácidos que deberían ser claves para la unión de los sustratos Na<sup>+</sup> y AA por mutagénesis sitio dirigida, y hemos construido quimeras SVCT1SVCT2 combinando las regiones de menor identidad. Los mutantes y quimeras fueron expresados en células HEK-293 y se determinó su localización subcelular y propiedades funcionales. Este análisis funcional y estructural permitió confirmar experimentalmente la identidad de residuos de aminoácido importantes para la unión de los sustratos Na<sup>+</sup> y AA, además de identificar dominios estructurales claves para la mantención de la actividad funcional del transportador. Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT28.

**2. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LOS DETERMINANTES DE ESPECIFICIDAD DE COENZIMA EN GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA DE ESCHERICHIA COLI.** (Bioinformatic analysis of coenzyme specificity determinants of glucose-6-phosphate dehydrogenase from Escherichia coli) Ramírez, C.<sup>1</sup>, Ureta, T.<sup>1</sup>, Cabrera, R.<sup>1</sup>. Universidad de Chile<sup>1</sup>.

La parte oxidativa de la vía de las pentosas-P produce intermediarios biosintéticos y NADPH, a partir de glucosa-6-P. Con el propósito de estudiar, en Escherichia coli, el efecto del cambio en el destino metabólico de los electrones producidos por la vía de las pentosas-P (de NADPH a NADH) sin interrumpir el flujo de C, hemos analizado los determinantes de especificidad de coenzima de la glucosa-6-P deshidrogenasa (G6PDH) de esta bacteria. Esto permitirá predecir mutaciones que alteren la normal preferencia de esta enzima por NADP hacia NAD. Se utilizó CLUSTAL para generar un alineamiento múltiple de secuencias obtenidas mediante PSI-BLAST, utilizando las secuencias de G6PDH de E. coli, Leuconostoc mesenteroides y humano como semilla de búsqueda; estas dos últimas, con estructura resuelta, presentan diferencias en el uso de ambas coenzimas. En el dendrograma resultante, se observan grupos característicos para enzimas que usan sólo NADP o ambas coenzimas. Tales resultados indicarían que la condición primitiva corresponde al uso de NADP. El análisis de posiciones conservadas (rvET) señala al residuo R50 en G6PDH de E. coli, como un determinante potencial de la preferencia por NADP. Adicionalmente, rvET permitió detectar prospectos de enzimas sin preferencia por NADP. La estructura de la enzima de E. coli y de una mutante R50E fueron generadas por modelamiento comparativo usando MODELLER y evaluadas mediante Verify3D y ProSall. Los modelos fueron generados incluyendo las coenzimas NAD y NADP en cada caso para evaluar cambios en el patrón de interacciones observadas. Proyecto I2 0602-2, DI, Universidad de Chile.

**4. PUTATIVOS DOMINIOS DE UNIÓN A NUCLEÓTIDOS EN GLUT 1 FORMAN PARTE DE SITIOS DE UNIÓN PARA INHIBIDORES** (Putative ATP-binding domains on GLUT1 forms part of binding sites for inhibitors) Albornoz, A.<sup>1</sup>, Valenzuela, X.<sup>2</sup>, Vargas, M.<sup>1</sup>, Ojeda, P.<sup>1</sup>, Reyes, A.<sup>1</sup>. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia<sup>1</sup>, Programa Doctorado en Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago<sup>2</sup>. El transporte de glucosa a través de la membrana plasmática es facilitado por GLUT1, proteína expresada en la mayoría de las células. Nos interesa analizar tres secuencias cortas en esta proteína, dominio I (residuos 111-118, exofacial), dominio II (residuos 225-229, endofacial) y dominio III (residuos 332-338, endofacial), que exhiben homología con típicos sitios de unión de ATP, como posibles sitios involucrados en la interacción con inhibidores. Para ello probamos su importancia funcional a través de mutagénesis sitio dirigida y expresión en ovocitos de Xenopus. Para cada mutante analizamos sus propiedades cinéticas y su sensibilidad frente a citocalasina B, quercetina y tirfostina A47. Las mutantes K114R, G116A, K117R y K117Q del dominio I presentaron pérdida de la inhibición por quercetina. Las mutantes K225Q, S226A, K229Q del dominio II y H337N del dominio III perdieron sensibilidad frente a tirfostina A47, mientras las mutantes T335L y H337N mostraron una sensibilidad menor a citocalasina B. Estos datos demuestran la orientación exofacial para un sitio de unión para quercetina y uno endofacial para tirfostina A47 y citocalasina B e identifican residuos implicados en estos sitios (Financiado por FONDECYT 1060198).

**5. IDENTIFICACION DE UN DOMINIO DE UNION A NUCLEOTIDOS EN EL TRANSPORTADOR DE ACIDO ASCORBICO SVCT2.** (Identification of nucleotide binding domain in ascorbic acid transporter SVCT2) Aylwin, C<sup>1</sup>., Ormazabal, V<sup>1</sup>., Zúñiga, F<sup>1</sup>., Haensgen, H<sup>1</sup>., Gatica, M<sup>1</sup>., Rivas, C<sup>1</sup>., Vera, J<sup>1</sup>.. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

El transportador SVCT2 permite la entrada de ácido ascórbico (AA) al interior de las células mediante un mecanismo de cotransporte sodio-ascorbato, donde la unión secuencial de ambos sustratos regula las propiedades cinéticas de transporte. Aunque el proceso de transporte es independiente de la hidrólisis de ATP, se conoce que moléculas como flavonoides y metilxantinas, que interactúan con sitios de unión a nucleótidos, modifican la actividad funcional del transportador. Utilizando como modelo células SK-MEL que expresan en forma endógena SVCT2 y células transfectadas con la quimera SVCT2-GFP, hemos realizado un estudio funcional y estructural de SVCT2. Estudios de inhibición mixta entre miembros de la familia de flavonoides y metilxantinas indican que a pesar de ser compuestos con estructuras distintas, interaccionan directamente con un dominio estructural exofacial común en el transportador. Estos resultados concuerdan con la posible presencia de una secuencia consenso con características de dominio de unión a nucleótido en la cara exofacial. Estudios de mutagénesis dirigida al dominio de unión a nucleótidos muestran cambios en la capacidad de unir flavonoides y metilxantinas, sin afectar la capacidad de transporte de AA mediado por SVCT2, sugiriendo un posible rol regulador para este dominio de interacción. Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT28.

**7. CARACTERIZACION DE UN DOMINIO DE UNION A CATIONES DIVALENTES EN EL TRANSPORTADOR DE ACIDO ASCORBICO SVCT1** (Characterization of a bivalent cation domain in the ascorbic acid transporter SVCT1) Escobar, E<sup>1</sup>., Zúñiga, F<sup>1</sup>., Salas, A<sup>1</sup>., Ormazabal, V<sup>1</sup>., Muñoz, A<sup>1</sup>., Mardones, L<sup>1</sup>., Rivas, C<sup>1</sup>., Vera, J<sup>1</sup>.. Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

Los transportadores de ácido ascórbico SVCT1 y SVCT2 presentan una elevada identidad de secuencia aminoácida (cerca al 65%), diferenciándose en sus propiedades funcionales, cinéticas y sensibilidad a cationes divalentes. Así, el transportador SVCT2 presenta una pérdida total de actividad de transporte en ausencia de Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>, mientras que SVCT1 es aún activo en estas condiciones. Análisis de secuencia primaria reveló la presencia de un posible dominio con homología a sitios de unión a cationes divalentes tipo EF-hand en SVCT1, mientras que SVCT2 presenta dos dominios con estas características. Hemos realizado un análisis de estructura-función del sitio EF-hand presente en SVCT1 mediante un barrido de alaninas por mutagénesis sitio dirigida. Los mutantes fueron expresados en células HEK-293 y se analizó su nivel de expresión, localización celular, cinéticas de transporte y sensibilidad a cationes divalentes. Los mutantes estudiados muestran marcados cambios en sus propiedades funcionales, agrupándose en tres categorías dependiendo de si el efecto es sobre su localización celular, propiedades cinéticas o sensibilidad a cationes divalentes. Estos datos confirman la presencia de un dominio tipo EF-Hand en SVCT1 el cual cumple un papel tanto estructural como funcional siendo fundamental en el proceso de transporte de ácido ascórbico. Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT28.

**6. DOMINIOS DE UNIÓN A ATP SON IMPORTANTES PARA LA ACTIVIDAD FUNCIONAL DEL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT1** (ATP-binding domains are important for the functional activity of the glucose transporter GLUT1) Valenzuela, X<sup>1</sup>., Ojeda, P<sup>2</sup>., Albornoz, A<sup>2</sup>., Reyes, A<sup>2</sup>.. Programa Doctorado en Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago<sup>1</sup>, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia<sup>2</sup>.  
Glut1 es el principal representante de las proteínas integrales de membrana que facilitan el transporte de hexosas en células animales. Aunque no requiere de la hidrólisis de ATP para su función, su secuencia contiene algunos dominios con homología con sitios de unión a nucleótidos. Nosotros probamos la importancia funcional de estos dominios a través de mutagénesis sitio dirigida y expresión en ovocitos de *Xenopus*, determinando sus cinéticas de transporte bajo condiciones trans-cero de flujo y de intercambio en equilibrio. Cada una de las 6 mutantes que analizamos mostró efectos notables sobre la función de la proteína. La mutante K117Q exhibió solo un 20% de la actividad de transporte de Glut1 silvestre. Las mutantes G111A, G116A y K117Q del dominio I (de orientación exofacial) mostraron pérdida de la característica aceleración por contratransporte, mientras para las mutantes T335L, H337N y L338T del dominio III (de orientación endofacial) observamos una menor afinidad por metilglucosa. Los datos indican que estas regiones de Glut1 son importantes para mantener las propiedades cinéticas del transportador (Financiado por FONDECYT 1060198).

**8. FUNCION DE SER252 EN LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE S. CEREVISIAE** (Role of Ser252 in *S. cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase) Castillo, D<sup>1</sup>., Herrera, A<sup>1</sup>., Viveros, M<sup>1</sup>., Jabalquinto, A<sup>1</sup>., Cardemil, E<sup>1</sup>.. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile<sup>1</sup>.

La estructura cristalina de la enzima de *E. coli* en complejo con AIF3-Mg<sup>2+</sup>-ADP-piruvato [Sudom et al (2001) *J. Mol. Biol.* 314, 83-92], muestra que próximo al átomo de Al se encuentra el hidróxilo de Ser250 (Ser252 en *S. cerevisiae*) sugiriendo que este residuo participa en la transferencia del grupo fosforilo. Para dilucidar su función se prepararon las mutantes: Ser252Ala, Ser252Cis y Ser252Tre. Las enzimas se purificaron de acuerdo al método descrito para la enzima silvestre y se obtuvieron en un alto grado de pureza. El estudio cinético en la dirección de formación de oxaloacetato mostró que las mutantes Ser252Ala y Ser252Cis presentaron una disminución de 100 veces en la Vmax respecto de la enzima silvestre, en tanto que la mutante Ser252Tre mostró una disminución de 1000 veces en la Vmax. Todas las enzimas mutantes mostraron un modesto aumento en la Km para MnADP. Por otra parte, la cinética en la dirección de formación de fosfoenolpiruvato mostró un aumento significativo en la Km para oxaloacetato y un aumento pequeño para la Km de MnATP, para las tres enzimas mutantes. Estos resultados sugieren que Ser252 es relevante para la afinidad de la enzima por oxaloacetato, y ponen en duda una función importante de ese residuo en la transferencia del fosforilo. Financiado por FONDECYT 1070202 y DICYT-USACH 02-0741JL.

**9. CARACTERIZACIÓN Y PREDICCIÓN DE SITIOS DE UNIÓN A LIGANDO EN PROTEÍNAS.** (Characterization and prediction of protein ligand binding sites.) Slater, A<sup>1</sup>, Pérez, N<sup>1</sup>, Ferrada, E<sup>1</sup>, Melo, F<sup>1</sup>. Departamento de Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

Se ha desarrollado una nueva metodología que utiliza potenciales basados en conocimiento y que no depende de las coordenadas explícitas del ligando, para la caracterización y predicción de sitios de unión a ligando en proteínas. Está basado en la distribución radial de la composición atómica así como en las interacciones átomo-átomo que definen un microambiente en la estructura. El método fue validado mediante tests jack-knife sobre los 428 sitios de unión a ATP presentes en complejos determinados experimentalmente y que se encuentran disponibles en el Protein Data Bank. Se obtuvo una tasa de verdaderos positivos superior al 90%, con un número muy limitado de falsos positivos. La relación sensibilidad-especificidad puede ser modificada dependiendo de la aplicación particular. La predicción de sitios de ATP fue evaluada utilizando algunas proteínas que han sido cristalizadas con y sin ligando. Tales ejemplos incluyen Detiobiotina Sintasa, Piridoxal Quinasa, Fosfoenolpiruvato Carboxiquinasa, Proteína Quinasa A, SR-Proteína Quinasa y Treonil-tRNA sintetasa. El método aún pudo predecir sitios de unión a ATP en proteínas cristalizadas sin el ligando, revelando cambios conformacionales en el sitio de unión. El método es rápido y puede ser aplicado a gran escala. Podría ser utilizado para orientar en la selección de sitios putativos de unión a ligando que pueden ser validados por medios más costosos en uso de CPU como el docking, que dependen de las coordenadas explícitas del ligando. PROYECTO FONDECYT 1051112..

**11. ROL ESTRUCTURAL DEL RESIDUO R457 EN LA AFINIDAD DE ADPΓDP EN CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE** (Structural role of R457 residue in ADPΓDP affinity in Phosphoenolpyruvate carboxikinase of *Saccharomyces cerevisiae*) Urbina, H<sup>1</sup>, Tobar, I<sup>2</sup>, Cardemil, E<sup>2</sup>, González, F<sup>1</sup>. Universidad de Talca<sup>1</sup>, Universidad de Santiago<sup>2</sup>.

Durante el proceso de gluconeogénesis, el piruvato es transformado a fosfoenolpiruvato con oxaloacetato como producto intermedio. El oxaloacetato es descarboxilado y fosforilado por la enzima Carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK):  $OAA + ATP \rightleftharpoons PEP + ADP \Gamma DP + CO_2$ . El conocimiento en detalle del mecanismo de acción y estructura de esta enzima, facilitaría el diseño de moléculas inhibitoras específicas de la PEPCK dependiente de ATP de protozoos patógenos, que podrían ser de utilidad en el tratamiento de tripanosomiasis. La mutación de arginina 457 de PEPCK de *Saccharomyces cerevisiae* por metionina afecta la especificidad de unión a nucleótido, mostrando una diferencia de energía de unión con ADP de 1.73 kcal/μol y con GDP de 0.37 kcal/μol. Modelos estructurales de la proteína nativa y mutante, en conformación abierta, son utilizados en cálculos de docking, dinámica molecular y métodos de perturbación de energía libre; intentando dar explicaciones teóricas a la notable pérdida de especificidad de nucleótido. Los resultados de docking de ADPΓDP con PEPCK en estado abierto muestran una buena correlación con los resultados experimentales. Las estructuras obtenidas fueron utilizadas como punto inicial para cálculos de simulación de dinámica molecular. El análisis de trayectorias de dinámica molecular da una idea de los posibles eventos que desencadenan el acercamiento entre los dominios de la proteína, consiguiendo una disposición espacial de los residuos propicia para el evento catalítico de transferencia del grupo fosfato. AGRADECIMIENTOS: FONDECYT 1070202 (E.C.), PBCT ACT24 (F.G.N.).

**10. ANÁLISIS TERMODINAMICO DEL SENSOR DE PH PRESENTE EN EL CANAL DE POTASIO TASK-2 (THERMODYNAMIC ANALYSIS OF THE PH SENSOR PRESENTS IN THE POTASSIUM CHANNEL TASK-2)** Di Génova, A<sup>1</sup>, Gonzalez-Nilo, D<sup>1</sup>, Sepúlveda, F<sup>2</sup>, Niemeyer, M<sup>2</sup>. Universidad de Talca<sup>1</sup>, CECS<sup>2</sup>.

TASK-2 es un canal de potasio perteneciente a la familia KCNK, la que se caracteriza por formar dímeros. Cada subunidad contiene cuatro segmentos transmembranales y dos dominios de poro (P). Las proteínas de la familia KCNK de acuerdo a similitud de secuencia y función pueden clasificarse dentro de 5 subfamilias. En particular TASK-2 pertenece a la subfamilia de Canales alcalino-activados por pH. Experimentalmente muchos sensores han sido propuestos para la regulación de la apertura mediada por pH en TASK-2. Recientemente nuestro grupo demostró que la neutralización de una arginina (R224) cercana al poro, es el sensor de pH de TASK-2. Con el propósito de estudiar el sensor de TASK-2 se realizaron simulaciones de dinámica molecular para obtener el perfil de energía libre, utilizando como coordenada de reacción la distancia que hay entre el sitio S2 del filtro de selectividad (ubicación inicial del ión) y el medio extracelular, utilizando distintos estados de protonación de la ARG224. Todas las dinámicas moleculares se realizaron utilizando el programa NAMD y los cálculos de perfiles de energía libre se llevaron a cabo utilizando ABF (Adaptive Biasing Force). Los resultados obtenidos sugieren que trasladar el ion desde el sitio S2 con ambas ARG224 neutras presenta una menor barrera energética que con ambas ARG224 cargadas, mientras que con sólo una ARG224 neutra se obtiene una barrera energética intermedia, lo que se correlaciona con los resultados experimentales observados. Estos resultados permiten analizar a nivel atómico los eventos que gobiernan la activación de TASK-2. Agradecimientos: PBCT ACT24..

**12. INACTIVACIÓN DEL CANAL DE POTASIO SHAKER (Shaker K+ Channel Inactivation)** Vergara, A<sup>1</sup>, Urbina, H<sup>1</sup>, González, C<sup>2</sup>, Holmgren, M<sup>2</sup>, González-Nilo, F<sup>1</sup>. Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, Talca<sup>1</sup>, Molecular Neurophysiology Unit, NINDS, NIH<sup>2</sup>.

Los Canales de K<sup>+</sup> dependientes del potencial eléctrico abren y cierran el poro respondiendo a cambios de voltajes, permitiendo así la conducción o no de iones a través de la membrana. Además de los estados abierto y cerrado, estos canales pueden inactivarse, estado en el cual no hay conducción de iones. La inactivación ocurre debido a que los primeros aminoácidos del extremo N-terminal forman una «bola de inactivación» que se une en la cavidad de poro por la boca intracelular del canal, produciendo el bloqueo. El objetivo de este trabajo es analizar las interacciones específicas que gobiernan la afinidad del segmento N-ter con el interior de la cavidad del poro. Para ello, se construyeron modelos moleculares de 4 mutantes del segmento S6 que han sido caracterizados experimentalmente demostrando que la recuperación de la inactivación depende de la hidrofobicidad de la cadena lateral en la posición 83. Mediante técnicas de simulación de acoplamiento Proteína-Ligando se analizaron las interacciones del segmento N-ter con la cavidad del poro. Para complementar, se estudio el perfil de energía libre del proceso de salida del segmento N-ter de la cavidad, usando Steered Molecular Dynamics (SMD). Los resultados de Docking muestran que las energías de interacción concuerdan con los resultados experimentales. El análisis estructural evidencia las interacciones específicas generadas entre el N-ter y la cavidad. Los resultados de SMD muestran que la energía del proceso de disociación esta gobernada por interacciones hidrófobas y electrostáticas entre el grupo amino del primer aminoácidos y el sitio S4 del filtro de selectividad. PBCT\_ACT24..

**13. SIMULACIONES DE DINAMICA MOLECULAR DE LOS DOMINIOS II Y III D DE LA REGION IRES DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C. EFECTO DE MUTACIONES SOBRE PROPIEDADES ELECTROSTATICAS Y ESTRUCTURALES.** (Molecular Dynamics simulation of hepatitis C virus IRES II and III d domains. Effects of mutations in electrostatic and structural properties.) Gonzalez, A<sup>1</sup>, Lagos, C<sup>1</sup>, Barría-Cárcamo, M<sup>2</sup>, Soza, A<sup>3</sup>, López-Lastra, M<sup>2</sup>, Perez-Acle, T<sup>1</sup>. Centro de Bioinformática (CBUC); Facultad de Ciencias Biológicas; Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>1</sup>, Laboratorio de Virología Molecular; Centro de Investigaciones Médicas; Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>2</sup>, Departamento de Gastroenterología; Facultad de Medicina; Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>3</sup>.

Hepatitis C virus (HCV) translation initiation is mediated by an internal ribosome entry site (IRES) located in the 5' untranslated region (5'-UTR) of the viral mRNA. This region adopts a three dimensional folded structure composed by III domains. Among these regions, the secondary and tertiary structures of the IRES loops II and III d are currently available. This NMR-generated information constitutes a valuable starting point to conduct structural studies throughout computational methods. In this study, the dynamic behavior of IRES domains II and III d was analyzed by means of molecular dynamic (MD) simulations. The simulations were carried out in explicit water environment with mono- and divalent counterions using particle-mesh Ewald summation to account for the electrostatic interactions. The obtained results allow the characterization of IRES domains II and III d dynamic behavior, the effects of counterions, hydrogen bond patterns and electrostatic properties of the individual domains. Within this context, IRES domains II and III d mutations, that hinder HCV IRES activity in both in vitro and ex vivo assays, identified in viral populations isolated from chronically infected patients, were analyzed through MD simulations and compared with the wild type reference structure. Comparative analysis showed the diverse effects of mutations and provided an explanation to the inhibition of HCV IRES activity. Financiamiento: FONDECYT 1050782, JEA1-IRD. Fundación Chilena para Biología Celular, AG es becario CONICYT, MIB es Becaria CONICYT e IRD. MLL es miembro del NMII.

**15. ESTUDIOS IN SILICO DEL ESTADO DE OLIGOMERIZACIÓN DE ALOFIOCIANINA.** (In silico studies of the oligomerization state of Allophycocyanin) Cifuentes, J<sup>1</sup>, Bunster, M<sup>1</sup>, Martínez-Oyanedel, J<sup>1</sup>. Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>.

Alofocianina es una ficobiliproteína principal componente del core del ficobilisoma (PBS); su función principal es captar energía luminosa proveniente de las antenas del PBS, constituidas por ficocianina y ficoeritrina, y conducirla a los centros de reacción fotosintéticos. Características de todas las ficobiliproteínas son la presencia de cromóforos tetrapirrólicos enlazados covalentemente a grupos de cisteínas y la composición de cadenas polipeptídicas organizadas en un heterodímero ( $\alpha\beta$ ), que luego oligomeriza para formar la estructura funcional de las ficobiliproteínas. Ficocianina y ficoeritrina se ha demostrado que se organizan en forma hexamérica ( $\alpha\beta$ )<sub>6</sub>, sin embargo Alofocianina sería principalmente trimérica, lo que podría estar relacionado con la forma en que se empaquetan las moléculas de Alofocianina para formar el core del ficobilisoma. Para modelar la transferencia de luz en el core del ficobilisoma se realizaron estudios de interacción entre trímeros de Alofocianina utilizando el programa Z-dock. Se obtuvieron modelos del tipo Cara-Cara, Cara-Espalda y Espalda-Espalda de los cuales se seleccionaron 20 de entre los 200 mejores, en base a las características de las superficies de interacción: tipo de aminoácidos, número de puentes de hidrógeno y área hidrofóbica de la superficie de interacción. Los modelos seleccionados fueron sometidos a ciclos de dinámica molecular usando GROMACS y se evaluaron nuevamente. Para refinar la selección de modelos finales se utilizó el cálculo de las constantes de transferencia de luz entre los trímeros utilizando el enfoque de Foerster. Se presentan los complejos con las mejores tiempos de transferencia entre los trímeros. Financiamiento DIUC 205037004-10, 207037006-10.

**14. RECONOCIMIENTO DE RNA EN RNA POLIMERASA DE ROTAVIRUS RNA-DEPENDIENTE. DINÁMICA MOLECULAR DIRIGIDA Y SIMULACIÓN DE ACOPLAMIENTO.** (SEQUENCE-SPECIFIC RNA RECOGNITION BY THE ROTAVIRUS RNA-DEPENDENT RNAPOLYMERASE, STEERED MOLECULAR DYNAMICS AND DOCKING SIMULATION) Navarro, C<sup>1</sup>, Urbina, H<sup>1</sup>, Bar-Magen, T<sup>2</sup>, Mascayano, C<sup>3</sup>, Patton, J<sup>2</sup>, González-Nilo, F<sup>1</sup>. Universidad de Talca<sup>1</sup>, NIH<sup>2</sup>, USACH<sup>3</sup>. La transcripción y replicación del RNA doble hebra -(ds)RNA- del genoma de rotavirus está dirigida por la RNA polimerasa VP1. Ensayos de movilidad electroforética (EMSA) han demostrado que VP1 reconoce específicamente la secuencia UGUGACC del dsRNA. Recientemente, se ha cristalizado el grupo A de la enzima VP1. Para llevar a cabo un análisis más profundo y dinámico de las interacciones específicas entre RNA y VP1, se utilizaron técnicas de simulación de acoplamiento (Docking). Los resultados señalan que las interacciones específicas entre RNA y VP1 se establecen mediante puentes de hidrógeno e interacciones tipo -catión. Se identificaron varios aminoácidos altamente conservados en la cavidad de entrada de VP1 que están involucrados en tales interacciones. Los valores de la energía de interacción entre estos residuos y los oligonucleótidos de RNA, están en concordancia con los ensayos EMSA previos. Ambos ensayos señalan que los nucleótidos de la secuencia 3'CS aumentan la afinidad del RNA viral por la polimerasa. Utilizando simulaciones de Dinámica Molecular Dirigida (SMD), se ha analizado además, los perfiles de fuerza y trabajo cuando el fragmento de RNA (UGUGACC y UGUGGCU) es sacado de la cavidad de VP1. Los resultados sugieren que una serie secuencial de interacciones específicas pero transitorias con 3'CS favorece la inserción específica del RNA viral UGUGACC por sobre el fragmento UGUGGCU en la cavidad de VP1. Estos resultados permitirán identificar los residuos claves en el reconocimiento del fragmento de RNA UGUGACC en VP1, dirigiendo eficientemente ensayos experimentales de mutagénesis sitio dirigida en este sistema.

**16. EFECTO DEL MN<sup>2+</sup> EN LA SECRECIÓN DE LA ENZIMA MNP EN EL BASIDIOMICETE LIGNINOLÍTICO CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA** (Effect of Mn<sup>2+</sup> on the secretion of the MnP enzyme in the ligninolytic basidiomycete Ceriporiopsis subvermispora) Mancilla, R<sup>1</sup>, Salas, L<sup>1</sup>, Bronfman, F<sup>2</sup>, Vicuña, R<sup>1</sup>. Depto Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile, Instituto Milenio (MIFAB) y Fondecyt (1070588)<sup>1</sup>, Depto Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile<sup>2</sup>.

Ceriporiopsis subvermispora es un hongo basidiomicete cuyo sistema ligninolítico extracelular esta compuesto por manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa (Lcs). Estudios previos han demostrado que la actividad de MnP es dependiente de la presencia de Mn<sup>2+</sup> en el medio. En ausencia del metal, aunque es posible observar una gran cantidad de transcritos mnp, no es posible detectar actividad enzimática, lo que sugiere un rol post-transcripcional del metal. Con el fin de descartar una posible degradación de MnP en los sobrenadantes de cultivo del hongo, analizamos los niveles de actividad proteolítica en el extracelular, determinando que ésta es muy baja en ausencia del metal. Teniendo en cuenta que el Mn<sup>2+</sup> ha sido descrito como un cofactor importante de proteínas asociadas al aparato de Golgi que favorecen las destinaación de proteínas, evaluamos si el Mn<sup>2+</sup> cumple algún rol a nivel de la secreción de MnP. Dado que no disponemos de una técnica para transformar C. subvermispora, utilizamos células HeLa para expresar el cDNA de MnP2 como proteína de fusión MnP2-GFP. Determinamos que a bajas concentraciones de Mn<sup>2+</sup>, la proteína de fusión colocaliza con el aparato de Golgi, y a concentraciones más alta esta disminuye, lo que sugiere que el metal participa de algún modo en la secreción de la enzima.

**17. ES LISINA 212 UN AMINOÁCIDO REQUERIDO PARA LA AFINIDAD DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE POR  $Mn^{2+}$ ?** (Is Lys212 an amino acid required for  $Mn^{2+}$  binding to *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxylase?) Escobar, C<sup>1</sup>, Jabalquinto, A<sup>1</sup>, Cardemil, E<sup>1</sup>. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>1</sup>

La formación de fosfoenolpiruvato (PEP) a partir de oxaloacetato (OAA) por un nucleósido trifosforilado catalizada por la carboxiquinasa fosfoenolpiruvica (PEPCK), es dependiente de la presencia de un metal divalente en el sitio activo de la enzima, que en el caso de la enzima de *S. cerevisiae* corresponde a manganeso. Los ligandos del metal corresponden a los residuos de Asp271, His233 y Lis213 junto con 3 moléculas de agua. La coordinación del metal por parte de Lis213 sugiere un bajo pKa para el grupo  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>, el cual se ha inferido que corresponde a 7,1. Esta alteración es debida en parte a un ambiente hidrófobo aportado por los residuos Fen216 y Fen416 que lo rodean y que desfavorecen la protonación del grupo  $\gamma$ -NH<sub>2</sub>. La presencia de un residuo adyacente a Lis213 (Lis212) podría influir sobre el pKa de Lis213 aportando un ambiente polar de carga positiva al encontrarse protonada. En este trabajo se evalúa el rol de Lis212, eliminando la carga positiva de esa posición, al reemplazarlo por glutamina. La enzima alterada presenta una disminución de kcat al 0,018% y 0,161% en dirección de formación de oxaloacetato y fosfoenolpiruvato, respectivamente, pero sin variaciones significativas en la afinidad de la enzima por el metal ni en la Km para el resto de los sustratos. Concluimos que la mutación Lis212Gln no altera la afinidad de la enzima por el metal, pero afecta notablemente etapas químicas de la catálisis. Financiado por Fondecyt 1070202..

**19. LA ARABINOFURANOSIDASA 2 DE *PENICILLIUM PURPUGENUM*: PURIFICACIÓN, SECUENCIACIÓN Y PROPIEDADES.** (*Penicillium purpurogenum* arabinofuranosidase 2: purification, properties and sequencing) Fritz, M<sup>1</sup>, Ravanal, M<sup>1</sup>, Eyzaguirre, J<sup>1</sup>. Universidad Andrés Bello<sup>1</sup>.

El hongo de pudrición blanda *Penicillium purpurogenum* secreta al medio de cultivo una gran variedad de enzimas xilanolíticas, entre ellas 3 arabinofuranosidasas (ABF). Este trabajo se refiere a la ABF 2. La enzima fue purificada a homogeneidad y caracterizada: tiene estructura monomérica y es una glicoproteína de peso molecular 70 000 y punto isoeléctrico 5,3. Al utilizar como sustrato p-nitrofenil  $\beta$ -L-arabinofuranósido la enzima obedece cinética de Michaelis con un KM de 0,098 mM. El pH óptimo de la enzima es 5,0 y su temperatura óptima 60Å°. La ABF 2 muestra escasa actividad frente a sustratos naturales poliméricos como arabinano, arabinano desramificado y arabinoxilano, pero sí muestra actividad hacia arabinooligosacáridos cortos. Estos resultados sugieren que la enzima pertenece al grupo de las exo  $\beta$ -L-arabinosil hidrolasas no activas sobre polímeros. Se secuenció el gen *abf2* y su cDNA, encontrándose que el gen posee 7 intrones. La proteína madura consta de 618 aminoácidos con un peso molecular calculado de 67 212. El alineamiento de la secuencia de ABF 2 con otras proteínas homólogas muestra que la enzima pertenece a la familia 51 de las glicosil hidrolasas. Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1040201 y 1070368 y UNAB 01-051.

**18. ESTUDIO POLAROGRAFICO DE LA UNIÓN DE OXÍGENO A LA HEMOCIANINA DE *C. CONCHOLEPAS*** (Polarographic studies of oxygen binding to *C. concholepas* Hemocyanin) González, A<sup>1</sup>, Nova, E<sup>2</sup>, De Ioannes, A<sup>1</sup>, Becker, M<sup>2</sup>, Ferreira, J<sup>3</sup>. Departamento de Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A.<sup>1</sup>, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo<sup>2</sup>, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.<sup>3</sup>

Las hemocianinas son metalo-glicoproteínas que transportan oxígeno en algunos moluscos, coordinandolo con átomos de cobre, con características de unión cooperativas. Son conocidas por su inmunogenicidad, siendo la más utilizada la de *M. crenulata* (KLH). Se determinaron los parámetros de unión de O<sub>2</sub> a hemocianina de *C. concholepas* (CCH), midiendo polarográficamente el oxígeno libre que queda en solución después de agregar un pulso de oxígeno al sistema en anaerobiosis. Se propone que CCH tendría una unión a O<sub>2</sub> alostérica, diferente al de otras hemocianinas. Por ser un heterodidécámero, tendría una cooperatividad diferente a KLH, que es homodidécámera. Se validó el método polarográfico con KLH, cuyos parámetros han sido medidos espectrofotométricamente. Se obtuvo un coeficiente de Hill de 3,29 (pH 7,9) con K<sub>0,5</sub> = 49,32  $\mu$ M y 1,06 (pH 8,9) con K<sub>0,5</sub> = 23,8  $\mu$ M, siendo los descritos de 3 y 1, respectivamente. CCH mostró un comportamiento alostérico en la unión de O<sub>2</sub>, con un coeficiente de Hill de 1,91 (pH 7,2) y K<sub>0,5</sub> = 23,66  $\mu$ M, evaluado en un rango entre pH 5,5 y 8. Se encontró que a 10Å°C hay mayor cooperatividad que a 25Å°C, y los coeficientes de Hill fueron 2,96 con K<sub>0,5</sub> = 72,13  $\mu$ M y 1,91 con K<sub>0,5</sub> = 23,66  $\mu$ M respectivamente. Se evaluó la respuesta inmune de ratones frente a Apo-CCH (sin cobre), encontrándose diferencias con respecto a CCH, obteniéndose un menor título de anticuerpos con Apo-CCH, sugiriendo cambios estructurales que afectan la inmunogenicidad de CCH. En conclusión, los resultados sustentan la hipótesis planteada. FONDECYT 105-0150 y 1061086.

#### EXPRESIÓN GÉNICA, BIOQUÍMICA Y PROTEÓMICA DE PLANTAS

**20. ANALISIS PROTEOMICO DE PRUNUS PERSICA DURANTE LA MADURACION Y LA POSTCOSECHA** (Proteomic Analysis of *Prunus persica* during ripening and postharvest.) Nilo, R<sup>1</sup>, Orellana, A<sup>1</sup>. Centro de Biotecnología Vegetal, UNAB<sup>1</sup>. Patrocinante: Vera, M.

Los frutos de durazno [*Prunus persica* L. Batsch] sufren una serie de cambios aún desconocidos a nivel molecular durante la maduración de *Prunus persica*. Además, el almacenamiento en frío durante prolongados periodos de tiempo, produce una serie de problemas en la calidad de la fruta, desconociéndose la causa molecular de este fenómeno. Con el objetivo de obtener un conocimiento más acabado de la maduración y de los desordenes fisiológicos gatillados durante la postcosecha se llevó a cabo un acercamiento proteómico global basado en el uso de la electroforesis diferencial en geles (DIGE), buscando detectar proteínas que se acumulan diferencialmente durante la maduración y la postcosecha. De esta forma evaluamos los patrones de acumulación de proteínas en cuatro estadios. Se detectó un número importante de cambios siendo los más interesantes aquellos relacionados con la acción coordinada de una tioredoxina H y otras proteínas que aparentemente podrían estar colaborando en el control del progresivo proceso oxidativo que ocurre en frutos. Además, se detectó la acumulación exclusiva de una proteína asociada con la conversión de leucoantocianidinas a antocianidinas en frutos dañados por frío que podría estar relacionada al pardeamiento que sufren estos frutos. Basados en nuestros resultados proponemos que en el daño por frío existe un metabolismo oxidativo anormal produciendo una disminución en la calidad de la fruta. Financiado por PCB-MN P02-009-F y FDI G02-P1001.

**21. ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES CAROTENOGÉNICOS Y BIOSÍNTESIS DE  $\beta$ -CAROTENO DURANTE EL DESARROLLO DE DAUCUS CAROTA L. (ZANAHORIA).** (Carotenogenic gene expression and  $\beta$ -carotene biosynthesis during *Daucus carota* L. (carrot) development) Fuentes, P<sup>1</sup>., Pizarro, L<sup>1</sup>., Flores, C<sup>1</sup>., Stange, C<sup>1</sup>.. Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

Los carotenoides son pigmentos lipídicos sintetizados en plastidios de células vegetales. En hojas y en frutos, la acumulación de carotenoides se correlaciona con la expresión de los genes carotenogénicos. A diferencia de otros modelos, *Daucus carota* acumula grandes cantidades de  $\beta$ -caroteno en la raíz modificada en oscuridad y bajo el control de los genes: fitoeno sintasa, fitoeno desaturasa, z-caroteno desaturasa, y licopeno b-ciclasa. Considerando estos antecedentes evaluamos la expresión de los genes carotenogénicos y cuantificamos los niveles de carotenoides durante el desarrollo de *D. carota*. Análisis de qRT-PCR, espectrofotometría y HPLC muestran un aumento en la expresión de los genes carotenogénicos y de los niveles de carotenoides totales y  $\beta$ -caroteno en la raíz modificada y en hojas en correlación con el desarrollo de la planta. Análisis comparativos de la expresión muestran que la mayoría de los genes carotenogénicos se expresan entre 2 a 3 veces más en hojas respecto a la raíz modificada. La acumulación de  $\beta$ -caroteno es tres veces mayor en la raíz modificada respecto a las hojas, aún cuando la concentración de carotenoides totales se mantiene constante en ambos órganos. Estos resultados sugieren una regulación transcripcional de los genes involucrados en la síntesis de  $\beta$ -caroteno durante el desarrollo tanto en hojas como en la raíz modificada. Sin embargo, no existe una correlación directa entre los niveles de carotenoides totales y la expresión de genes en hojas y raíz modificada, posiblemente debido a la acción de otros mecanismos regulatorios. Agradecimientos: Proyecto DI 12 0506-2, Universidad de Chile.

**23. INTERACCIÓN NITRATO:AUXINA EN EL DESARROLLO DE RAÍCES EN *ARABIDOPSIS THALIANA*** (Nitrate:auxin interaction in the development of *Arabidopsis thaliana* roots) Vidal, E<sup>1</sup>., Araus, V<sup>1</sup>., Gutiérrez, R<sup>1</sup>.. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>. Las plantas han desarrollado mecanismos sofisticados para adaptarse a cambios en las condiciones medioambientales. Por ejemplo, las raíces presentan una gran plasticidad en respuesta a las condiciones nutricionales del suelo. La modulación de la arquitectura de la raíz mediante crecimiento de la raíz principal o generación de raíces laterales representa una forma de optimizar la adquisición de nutrientes y agua del suelo. Se ha determinado que la fitohormona auxina está implicada tanto en la iniciación y establecimiento de raíces laterales como en el crecimiento de la raíz principal. Por otra parte, estudios previos de nuestro laboratorio y de otros han determinado que nitrato, la principal fuente de nitrógeno disponible en los suelos es capaz de estimular el desarrollo de la raíz principal y de raíces laterales. Nitrato, a parte de su papel nutricional, actúa como una señal que controla la expresión génica. Como un primer paso para entender las bases moleculares mediante las cuales nitrato es capaz de regular la arquitectura de la raíz en *Arabidopsis thaliana*, analizamos los niveles de transcrito de los cuatro receptores de auxina existentes luego de tratamientos con nitrato. Determinamos que nitrato es capaz de aumentar la cantidad de transcrito de AFB3, uno de los receptores de auxina en raíces. Estos datos sugieren una función específica de este receptor en la regulación la arquitectura de la raíz en respuesta a nitrato en *Arabidopsis*. Agradecimientos a FONDECYT 1060457, ICGEB CRPCHI0501 y Beca de Doctorado CONICYT.

**22. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN POSIBLE TRANSPORTADOR DE BORO EN CÍTRICOS** (Characterization of putative boron transporter gene in *Citrus macrophylla*) Cañon, P<sup>1</sup>., Rodríguez, A<sup>1</sup>., Arce-Johnson, P<sup>1</sup>.. Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

El boro es un nutriente fundamental para el desarrollo de las plantas superiores y participa en procesos como la formación de la pared celular, elongación del tubo polínico y el transporte de azúcares, entre otros. El rango entre déficit y toxicidad al boro es muy estrecho, por lo que la regulación entre la absorción y exclusión en la célula son fundamentales para mantener su homeostasis. En Chile, altas concentraciones de boro en la zona-norte y bajas concentraciones en la zona centro-sur, afectan seriamente a los cultivos que crecen en estas regiones generando pérdidas económicas en especies de interés agrícola, como los cítricos. La respuesta fisiológica y los mecanismos moleculares del transporte del boro aún no se conocen bien. Sin embargo, en *Arabidopsis* se ha descrito un transportador de boro responsable de cargar el boro desde las raíces hacia los brotes en condiciones de déficit. Nosotros identificamos, aislamos y caracterizamos un posible transportador de boro en *Citrus macrophylla* con alta homología a los transportadores de boro encontrados en otras especies. Este gen se expresa principalmente en hojas y raíces. Su expresión se ve aumentada frente a bajas concentraciones de boro y no se ve alterada frente a un exceso de boro en el medio de crecimiento. Agradecimientos PROYECTO INNOVA-CHILE 204-4037..

**24. CARACTERIZACIÓN DE UN HOMÓLOGO DEL GEN CONSTANS EN VID** (Characterization of a CONSTANS like gene from grapevine) Almada, R<sup>1</sup>., González-Villanueva, E<sup>1</sup>., Ruiz-Lara, S<sup>1</sup>.. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, 2 Norte N° 685, Talca<sup>1</sup>.

En *Arabidopsis*, las proteínas CONSTANS y CONSTANS-LIKE han sido relacionadas con la percepción de claves medioambientales y controlarían transiciones del desarrollo como la floración, mientras que en plantas leñosas perennes, mediarían procesos morfogénicos como floración y dormancia. *Vitis vinifera* L., muestra un patrón de desarrollo estacional y variaciones en el fotoperiodo tienen en esta especie efectos sobre la floración. En este trabajo analizamos un gen de *V. vinifera* con homología a miembros de la familia génica CONSTANS de *Arabidopsis*. El gen *V. vinifera* CONSTANS LIKE 1 (VvCOL1) posee un intrón y codificaría una proteína de 347 aminoácidos con dos motivos zinc finger y un dominio CCT. También, presenta alta similitud con proteínas CONSTANS-like de otras angiospermas leñosas a las cuales estaría relacionada evolutivamente. Además, en órganos vegetativos, el gen VvCOL1 se expresa en hojas, tallos y zarcillos. En órganos reproductivos, transcritos del gen VvCOL1 son evidentes en inflorescencias pequeñas y se observa una disminución de los mismos en estadios más avanzados del desarrollo, como flor madura y bayas. El conocimiento de las bases moleculares de la respuesta de la vid a claves medioambientales permitirá generar estrategias para optimizar la producción de este importante cultivo.

**25. CARACTERIZACIÓN DE DOS MUTANTES NULAS EN EL GEN SDH2-3 DE *ARABIDOPSIS THALIANA*** (Characterization of two knock out mutants in the *Arabidopsis thaliana* SDH2-3 gene) Corvalán, C<sup>1</sup>., Fuentes, I<sup>1</sup>., Jordana, X<sup>1</sup>.. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

SDH2-3 es un gen nuclear que codifica para la proteína hierro-azufre del Complejo II respiratorio mitocondrial. Otros dos genes nucleares, SDH2-1 y SDH2-2, codifican para la misma proteína y se expresan en todos los órganos de plantas adultas. En cambio, la expresión de SDH2-3 ha sido detectada sólo durante el desarrollo de las semillas. Los transcritos aparecen durante la maduración del embrión, se mantienen en semillas secas y disminuyen durante la germinación. En contraste, transcritos de los otros dos genes apenas se detectan durante estas etapas. Estos antecedentes, sumados al hecho de que SDH2-3 posee elementos en el promotor que son distintos a SDH2-1 y SDH2-2, sugiere que existe un recambio de las subunidades en el Complejo II, donde SDH2-3 sería reemplazada por SDH2-1 o SDH2-2 durante la germinación. Debido al patrón de expresión de SDH2-3, se evaluó la importancia del gen durante las etapas de desarrollo embrionario y en la germinación de las semillas, y para ello se contó con 2 mutantes nulas del gen SDH2-3. Las semillas de las mutantes presentaron un retraso en la germinación respecto a semillas silvestres, pero germinaron todas y las plántulas se desarrollaron normalmente. Ello se debe probablemente a un efecto de compensación por parte de los otros genes y el recambio de SDH2-3 por SDH2-1 o SDH2-2. Recientemente se han obtenido mutantes dobles *sdh2-3|sdh2-1*, y resultados preliminares indican un mayor retraso en la germinación de estas mutantes y una reducción drástica de la actividad del Complejo II en embriones. Fondecyt N°1060485.

**27. FUNCION DE LA FAMILIA DE RECEPTORES DE CITOQUININA EN LA RESPUESTA INDUCIDA POR NITRATO EN *ARABIDOPSIS THALIANA*** (Role of the cytokinin receptor family in the nitrate response in *Arabidopsis thaliana*) Tamayo, K<sup>1</sup>., Gutiérrez, R<sup>1</sup>.. Departamento de genética molecular y microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

El Nitrógeno es un macronutriente esencial para las plantas. Nitrato es una de las fuentes más importantes de nitrógeno y es capaz de provocar cambios en la expresión génica global de la planta. Las citoquininas son hormonas vegetales derivadas de adenina que participan en procesos como proliferación y diferenciación celular. Actúan mediante una vía similar a los sistemas de dos componentes bacterianos, y sus receptores son AHK2, 3 y 4. Numerosas evidencias sugieren una interacción entre nitrato y citoquininas. Por ejemplo, genes ligados a la biosíntesis y transducción de señales de citoquinina son rápidamente inducidos por tratamientos con nitrato. Resultados previos en nuestro laboratorio indican que el crecimiento de la raíz primaria en presencia de nitrato como única fuente de nitrógeno es menor en mutantes dobles AHK3 y AHK4 en comparación con plantas silvestres de *A. thaliana*. En este proyecto buscamos establecer la función de los distintos receptores de citoquinina en la respuesta a nitrato observada. Para ello, comparamos la respuesta a nitrato de mutantes individuales y combinaciones de los receptores de citoquinina con la respuesta de plantas silvestres. Mutantes dobles *ahk2-3* y *ahk2-4*, presentan un fenotipo equivalente a *ahk3-4*. Sin embargo, mutantes individuales no muestran diferencias en comparación con plantas silvestres. Nuestros resultados indican que la respuesta a nitrato no es específica de un receptor, sino que está dada por el número de receptores mutados. Agradecimientos: Fundación Andes(C1406062), ICGB(CRPCHI0501), FONDECYT (1060457).

**26. CARACTERIZACIÓN DE UNA FAMILIA DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN DE TIPO BZIP INVOLUCRADOS EN SEÑALES DE ÁCIDO ABSCÍSICO Y ESTRÉS ABIÓTICO EN TOMATE** (Characterization of a family of bZIP transcription factors involved in abscisic acid and abiotic stress signaling in tomato) Yáñez, M<sup>1</sup>., Ruiz-Lara, S<sup>1</sup>., Casaretto, J<sup>1</sup>. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca<sup>1</sup>.

Uno de los mecanismos utilizados por las plantas para responder a diferentes tipos de estrés abiótico es la regulación de genes. Algunos de estos genes que se activan por estrés son factores de transcripción que controlan en forma coordinada la expresión de genes que cumplen una función protectora en la planta. Entre estos factores de transcripción, destaca una subfamilia de proteínas de tipo bZIP que actúan como mediadores de respuestas a estrés abiótico y señales por la fitohormona ácido abscísico (ABA). Se han identificado tres miembros de este grupo de bZIPs en tomate (*Solanum lycopersicum*). Dos cDNA, SIAREB1 y SIAREB2, son de largo completo y un tercero, SIAREB3, con secuencia incompleta. Los genes de estos factores de transcripción se encuentran en una sola copia y las secuencias aminoácidas demuestran una gran homología con otros factores tipo AREB y conservación de las cuatro dominios característicos de este grupo de factores de transcripción. Análisis de la expresión de SIAREB1 y SIAREB2 por RT-PCR mostraron que ambos genes se inducen más en plantas bajo estrés salino que en aquellas no estresadas. Ambos genes además se expresan en una especie silvestre de tomate, *S. chilense*, la cual es tolerante a condiciones de estrés salino y sequía. Evaluación de plantas transgénicas que sobreexpresan y silencian la expresión endógena de estos genes permitirán determinar el papel de estos factores en la tolerancia y respuestas de esta especie a estrés hídrico y salino. Financiado por: Fondecyt 1060843; IFS C-4075.

**28. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENES DE RESPUESTA TEMPRANA A ÁCIDO SALICÍLICO EN *ARABIDOPSIS*** (Identification and characterization of SA early induced genes in *Arabidopsis*) Blanco, F<sup>1</sup>., Salinas, P<sup>1</sup>., Hologuie, L<sup>1</sup>.. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

La acumulación de ácido salicílico (SA) en las plantas se traduce en la activación de genes que tienen como objetivo defender y protegerlas contra diferentes estreses. Utilizando *Arabidopsis thaliana* como modelo realizamos experimentos de microarrays y AFLP-TP e identificamos 229 genes que aumentan su nivel de transcrito después de tratamientos exógenos con SA. Del total de genes inducidos seleccionamos 15 genes y mediante Northern utilizando plantas wt y mutantes en un co-activador maestro de la respuesta de defensa (*npr1.1*), determinamos que existen dos grupos de genes: dependientes e independientes de NPR1 para su activación. Realizamos tratamientos de plantas con un inhibidor de la síntesis de proteínas lo cual indica que la transcripción de estos genes es temprana. Además, realizamos experimentos con un inhibidor de la transcripción y observamos que para todos los genes seleccionados la acumulación de los transcritos se debe a una activación transcripcional. De manera muy interesante, observamos que infecciones de las plantas con un patógeno avirulento también inducen la transcripción de estos genes. Finalmente, comenzamos la caracterización de los productos proteicos de 5 genes: dos independientes y 3 dependientes de NPR1. Realizamos construcciones génicas para generar proteínas de fusión con la proteína fluorescente verde y determinamos su localización subcelular por microscopía confocal utilizando expresión transitoria en tabaco. Hasta el momento hemos determinado que LLP (proteína con dominio lectina) se localiza en la membrana plasmática, ANAC102 (factor de transcripción) es una proteína nuclear, GRXC9 (glutarredoxina) tiene una distribución nuclear y citoplasmática, y GRXS13 (glutarredoxina), es principalmente cloroplástica. Fondecyt 1060494.

**29. REGULACION DEL COMPLEJO II (SUCCINATO DESHIDROGENASA) DURANTE EL DESARROLLO DE LA SEMILLA EN *ARABIDOPSIS THALIANA*.** (Regulation of complex II (Succinate dehydrogenase) during *Arabidopsis thaliana* seed development) Vasquez, M<sup>1</sup>, Roschztardt, H<sup>1</sup>, Gómez, I<sup>1</sup>, Jordana, X<sup>1</sup>. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.<sup>1</sup>

El complejo II o Succinato deshidrogenasa cataliza la oxidación de succinato a fumarato y la reducción de ubiquinona a ubiquinol. Tres genes, SDH2-1, SDH2-2, SDH2-3, codifican para la subunidad hierro-azufre de este complejo en *Arabidopsis*. Previamente habíamos determinado que el gen SDH2-3 es expresado fuertemente solo durante el desarrollo de la semilla, y regulado por factores de transcripción del tipo B3 (ABI3 y FUS3), los cuales regulan la expresión génica durante el desarrollo de la semilla. A diferencia de FUS3, ABI3 no se une directamente al DNA, sino que sería reclutado por factores de transcripción del tipo bZIP. Utilizando plantas transgénicas que sobreexpresan bZIP10 y bZIP25, observamos que éstos son capaces de inducir en tejido vegetativo genes típicos del desarrollo de la semilla, como At2S3 y Em6, pero no el gen SDH2-3. Utilizando plantas transgénicas que expresan el gen reportero GUS bajo el control de los promotores de SDH2-1 o SDH2-2, se determinó que estos promotores tienen una baja actividad durante el desarrollo de la semilla y una mayor actividad en tejido vegetativo. Por último, se ha determinado que en mutantes lec2 (LEC2: factor de transcripción tipo B3) y abi3, la actividad succinato deshidrogenasa disminuye drásticamente en los cotiledones del embrión. Nuestros resultados nos permiten suponer que el gen SDH2-3 es más importante que los genes SDH2-1 y SDH2-2 durante el desarrollo del embrión y, que la pérdida de actividad enzimática en embriones mutantes abi3 y lec2 se debe a una ausencia de expresión del gen SDH2-3. FONDECYT 1060485..

**31. DESARROLLO DE HERRAMIENTAS PARA EL ESTUDIO DE GONST3 Y 4, TRANSPORTADORES DE NUCLEÓTIDOS-AZÚCAR DE *ARABIDOPSIS THALIANA*** (Development of tools for the study of GONST3 and 4, nucleotide-sugar transporters in *Arabidopsis thaliana*) Ramila, C<sup>1</sup>, Miranda, J<sup>1</sup>, Caroca, R<sup>1</sup>, Handford, M<sup>1</sup>. Universidad de Chile<sup>1</sup>.

Para la síntesis y modificación de glicoconjugados en el lumen del aparato de Golgi, se requieren transportadores específicos para importar nucleótidos-azúcar sintetizados en el citosol. En *Arabidopsis* hemos identificado GONST3 y 4, proteínas que poseen las características moleculares de transportadores de nucleótidos-azúcar (TNAs) de otros organismos, específicamente de GDP-azúcares. Estos TNAs se localizan en el aparato de Golgi y se expresan en distintos órganos vegetales. Nuestro trabajo está enfocado en determinar la especificidad de sustratos de estos TNAs y analizar sus papeles en la planta. Para lograr el primer objetivo se realizó un constructo para expresar GONST4-His, tarea en desarrollo para GONST3. Mediante *Agrobacterium tumefaciens*, se transformaron transitoriamente hojas de tabaco, determinándose por RT-PCR que se sobre-expresa GONST4. A partir de estas hojas, se hizo un fraccionamiento subcelular para obtener vesículas de membrana enriquecidas en aparato de Golgi. Actualmente, se está detectando la presencia del TNA para luego hacer ensayos de transporte con nucleótidos-azúcar marcados radioactivamente. Para cumplir el segundo objetivo, se pretende reducir y aumentar la expresión de GONST3 y 4. En el caso de GONST4, se intenta disminuir su expresión mediante dos estrategias. Como primera, hemos identificado tres mutantes insercionales putativas de ADN-T en GONST4 y como segunda, se hizo un constructo y se transformó *Arabidopsis* para bajar su expresión mediante RNAi. Esta última estrategia también se realizó para GONST3. Por último, para estudiar el efecto de sobre-expresar TNAs, se transformó establemente *Arabidopsis* con GONST4-His. Se presentarán los resultados del progreso de esta investigación. Financiamiento: Fondecyt Iniciación 11060470..

**30. AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL cDNA DEL GEN GST24 DE VIDES.** (Isolation and characterization of the cDNA for GST24 gene from grapevines) Merabachvili, G<sup>1</sup>, Holuigue, L<sup>1</sup>. Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

En plantas se ha descrito que el ácido salicílico (SA) es esencial para la activación de mecanismos de defensa a estrés. Estudios realizados para determinar el papel del SA en defensa en plantas de *Arabidopsis thaliana* han mostrado que SA activa la transcripción de genes de defensa, principalmente con función antimicrobiana y detoxificante. Con el propósito de identificar genes relacionados con la respuesta de defensa a estrés activados por SA en vides (*Vitis vinifera* cv Cabernet Sauvignon), se analizó el perfil de expresión de genes en respuesta a tratamientos con SA, utilizando micromatrices heterólogas de *Arabidopsis*. El análisis de los datos nos permitió identificar un grupo de genes que responden a SA, de los cuales seleccionamos 8 para verificar su expresión mediante RT-PCR en tiempo real. Del grupo que verificamos, seleccionamos el gen GST24 para caracterizar su cDNA. Este gen codifica para una glutatión S-transferasa, enzimas que se sabe participan en el proceso de detoxificación celular. Para obtener el cDNA completo del gen utilizamos la técnica de RACE, obteniendo la secuencia del cDNA con los extremos 5' y 3' UTR. Además, determinamos la expresión del gen en infecciones con patógenos y en estrés por calor. Financiamiento FONDEF G02S1001 y Fondecyt 1060494.

**32. ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN DEL COMPLEJO II MITOCONDRIAL EN *ARABIDOPSIS THALIANA*** (Analysis of mitochondrial complex II function in *Arabidopsis thaliana*) Fuentes, D<sup>1</sup>, Gomez, I<sup>1</sup>, Jordana, X<sup>1</sup>. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>1</sup>

La succinato deshidrogenasa o complejo II es un complejo enzimático que participa tanto en el ciclo de Krebs como en la cadena transportadora de electrones. En plantas está formado por 2 subunidades periféricas (SDH1 y SDH2) y dos subunidades integrales de membrana (SDH3 y SDH4). Varias de estas subunidades están codificadas por más de un gen. Nuestro laboratorio se ha interesado en caracterizar la función de la succinato deshidrogenasa (SDH) durante el desarrollo de la planta. Es por esto que utilizando TTFA, un inhibidor específico de esta enzima, se determinó que SDH es importante para la germinación, el desarrollo post-germinativo y la tolerancia a la salinidad. Además, condiciones de estrés salino y osmótico generan un aumento en los niveles de transcritos de los genes que codifican para las subunidades SDH1-1 y SDH2-1. Esto sugiere que frente a condiciones de estrés puede ser necesario un aumento de la actividad del complejo II. Finalmente, plantas heterocigotas mutantes en el gen SDH1-1 presentan una disfunción mitocondrial y muestran una disminución de los transcritos de genes nucleares que codifican para subunidades de los complejos I y II. Ello sugiere que existe una regulación concertada de la expresión de genes nucleares que codifican para proteínas mitocondriales en condiciones de disfunción mitocondrial. Financiado por proyecto Fondecyt regular 1060485 y beca de doctorado Conicyt. (D.F).

**33. EL ABLANDAMIENTO ACELERADO DEL FRUTO DE FRUTILLA CHILENA (*FRAGARIA CHILOENSIS*) CORRELACIONA CON UNA TEMPRANA ACTIVIDAD POLIGALACTURONASA Y EXPRESIÓN DEL GEN FCPG1** (The fast softening rate of the Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*) fruit correlates with an early polygalacturonase activity and FcPG1 gene expression) Figueroa, C<sup>1</sup>, Pimentel, P<sup>1</sup>, Gaete-Eastman, C<sup>1</sup>, Herrera, R<sup>1</sup>, Caligari, P<sup>1</sup>, Moya-Leon, A<sup>1</sup>. Lab Fisiología Vegetal y Genética Molecular, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, U de Talca, Casilla 747, Talca, Chile<sup>1</sup>.

La frutilla chilena es un recurso natural con características favorables para su explotación y conservación. Sus frutos presentan excelentes propiedades organolépticas, como un especial sabor y aroma, sin embargo, se ablandan rápidamente lo que limita su postcosecha. Con el objetivo de explicar molecularmente este fenómeno, se analizó la expresión génica y la actividad enzimática de Poligalacturonasa (PG), enzima clave en la degradación de pared celular de muchos frutos. En primer lugar, se definieron y caracterizaron 4 estadios de crecimiento y maduración para *F. chiloensis*: fruto verde pequeño (VP), verde grande (VG), transición (T) y maduro (M). El mayor descenso de la firmeza se produce entre el estadio VG y T. Ello coincide con la mayor solubilización de pectinas covalentes. Se aisló y clonó desde *F. chiloensis* un cDNA con alta homología a otras PGs de fruto, denominado FcPG1. El análisis de expresión de este gen en los diversos estadios, reveló un nivel de transcritos considerable en el estadio VG, el cual aumenta a medida que el fruto madura. Por otra parte, ensayos de actividad enzimática revelaron una alta actividad PG en el estadio VG, la cual disminuye hacia el final de la maduración. Estos resultados indican que la temprana actividad PG y la expresión de su gen, son eventos clave en el ablandamiento de *F. chiloensis*. Agradecimientos: Fundación Andes C-1385512, CIBS y Proyecto Anillo ACT-41..

**35. EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES INVOLUCRADOS EN LA RESPUESTA GRAVITRÓPICA DE *PINUS RADIATA* D. DON.** (Differential expression of genes involves in gravitropic response of *Pinus radiata* D. Don.) Ramos, P<sup>1</sup>, Moya, M<sup>1</sup>, Herrera, R<sup>1</sup>. Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.<sup>1</sup>

En la naturaleza, árboles pertenecientes a la familia de las coníferas desarrollan madera de compresión en respuesta a un estímulo gravitropico. Los genes involucrados y los mecanismos moleculares que subyacen a este fenómeno aún se desconocen. En este trabajo se estudió la expresión de genes a tiempos tempranos de inducido el doblamiento por inclinación de 45° en plántulas de pino radiata. Como la respuesta de reorientación del tallo se observa alrededor de las 2,5 horas, se realizó una extracción RNA total a los tiempos de 2,5 y 10 horas de inducido el estímulo gravitropico de la zona apical del tallo que responde curvándose y, mediante un corte longitudinal de este, se extrajo muestra de la mitad superior y de la mitad inferior. A partir de estos RNAs se generaron bibliotecas substractivas (SSH) de ESTs, conteniendo un total de 1200 clones con un tamaño de fragmentos entre 300 y 1500 pb. Se estimó una redundancia cercana al 40%. El análisis de BLAST muestra una expresión diferencial de genes en respuesta al estímulo gravitropico de una gran cantidad de genes involucrados en transporte intracelular, metabolismo, formación de pared celular y transducción de señales hormonales entre otros. Financiamiento: Fondecyt 1071026, DPI-UTALCA enlace..

**34. CARACTERIZACIÓN DEL PROMOTOR DEL GEN QUE CODIFICA PARA LA FLAVOPROTEÍNA DEL COMPLEJO II MITOCONDRIAL EN *ARABIDOPSIS THALIANA*.** (Characterization of the promoter region of mitochondrial complex II flavoprotein gene in *Arabidopsis thaliana*.) Carrasco, P<sup>1</sup>, Tapia, R<sup>1</sup>, Fuentes, D<sup>1</sup>, Jordana, X<sup>1</sup>. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

En *Arabidopsis thaliana* dos genes nucleares, SDH1-1 y SDH1-2, codifican para la subunidad I (flavoproteína) del complejo II respiratorio mitocondrial. Se sabe que una mutante nula en SDH1-1 presenta alteraciones en el desarrollo de ambos gametos, impidiendo la obtención de plantas homocigotas mutantes. Por el contrario, plantas homocigotas mutantes en SDH1-2 no presentan un fenotipo alterado observable, lo que hace pensar que SDH1-2 es dispensable. El objetivo de este trabajo es la caracterización del promotor de SDH1-1. Para ello, se fusionaron dos largos distintos de la región río arriba del ATG, 434 pb (construcción P1) y 904 pb (construcción P2) al gen reportero GUS. Mediante tinción cualitativa de las plantas transgénicas obtenidas, se observó que P1 es inactivo, mientras que P2 tiene actividad, aunque débil, en todos los tejidos de la planta adulta. Además, se determinó mediante análisis cuantitativo que hay un aumento de la actividad GUS durante el crecimiento post-germinativo. Nuestros resultados sugieren que la construcción P2, que incluye toda la región intergénica y parte del gen situado río arriba de SDH1-1, no contiene todos los elementos necesarios para una expresión eficiente de éste. Por otra parte, para demostrar que el fenotipo observado en las mutantes insercionales en el gen SDH1-1, se debe sólo a la inserción en éste, se decidió complementar plantas SDH1-1|sdh1-1. Utilizando P2 fusionado al cDNA de SDH1-1 no se obtuvo complementación, lo que apoyaría la conclusión de que P2 presenta una baja actividad como promotor efectivo de SDH1-1.

Financiado por proyecto Fondecyt regular 1060485.

**36. GENÉTICA Y GENÓMICA PARA ENTENDER EL PAPEL DE LAS CITOQUININAS EN LA RESPUESTA DE *ARABIDOPSIS THALIANA* A NITRATO** (Genetic and Genomic Approaches to Understand the Role of Cytokinins in the Nitrate Response of *Arabidopsis thaliana*.) Naulin Gysling, P<sup>1</sup>, Gutiérrez Ilabaca, R<sup>1</sup>. Departamento Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

Nitrógeno es un macronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Nitrato, la principal fuente de nitrógeno disponible en el suelo, actúa como señal para modular la expresión génica a nivel global en *Arabidopsis thaliana*. Sin embargo se desconocen los mecanismos moleculares involucrados en la respuesta a nitrato. Nuestro trabajo y el de otros grupos sugieren que hormonas vegetales, y principalmente citoquininas, juegan un papel central en la respuesta a nitrato. En este estudio combinamos enfoques genéticos y genómicos para entender el papel de las citoquininas en la respuesta a nitrato. Estamos utilizando un mutante en la vía de transducción de señales de citoquininas, el mutante doble *ahk3-4*, con un fenotipo de hiposensibilidad a la hormona. Análisis fenotípico de esta línea mutante bajo diferentes condiciones nutricionales de carbono, nitrógeno y una combinación de ellas, indican que la vía de transducción de señales de citoquinina es necesaria para la estimulación del crecimiento de las raíces por nitrato. Esto indica que citoquininas actúan como señal río abajo de metabolitos de N. Por otro lado, análisis de genes centinelas por PCR cuantitativo en tiempo real sugieren que la regulación génica dependiente de citoquinina es tejido específica. Estudios genómicos se utilizarán para evaluar el impacto global de esta vía de transducción de señales en la respuesta a nitrato. Agradecimientos: Fundación Andes C-1406062 y Fondecyt 1060457.

**37. PROSPECCIÓN DE VIRUS EN PLANTAS DE FRUTILLA CHILENA (*FRAGARIA CHILOENSIS* (L.) DUCH.).** (Viral survey of Chilean strawberry *Fragaria chiloensis* (L.) Duch.) Rojas, P<sup>1</sup>, Salazar, M<sup>1</sup>, Lavandero, B<sup>1</sup>, Sandoval, C<sup>2</sup>, Caligari, P<sup>1</sup>. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca<sup>1</sup>, Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca<sup>2</sup>. Patrocinante: Herrera, R.

Actualmente la frutilla chilena, si bien presenta propiedades organolépticas especiales (sabor y aroma particulares, color blanco del fruto), es un recurso escasamente explotado debido a una serie de obstáculos que impiden que sea un cultivo sustentable. Se ha reportado que *Fragaria chiloensis* corresponde a uno de los progenitores de la frutilla comercial y, al ser esta especie nativa tolerante a diferentes tipos de estrés, constituye una fuente de recursos genéticos para los programas de mejoramiento. Dentro de las enfermedades que afectan a los cultivos de frutilla, los agentes etiológicos más importantes corresponden a los virus. A nivel mundial se han identificado una serie de virus que afectan a las especies de *Fragaria*, pero existe poca información relacionada con *F. chiloensis*. El objetivo de este trabajo fue, mediante las técnicas de ELISA y RT-PCR, develar el estado actual, en cuanto a frecuencia y distribución de infecciones virales en plantas cultivadas y silvestres de *F. chiloensis*. Se realizó un muestreo al azar en 17 localidades del centro-sur de Chile y el diagnóstico incluyó a los virus Strawberry mild yellow edge (SMYEV), Strawberry mottle (SMoV), Strawberry crinkle (SCV), Strawberry vein banding (SVBV), Strawberry latent ringspot (SLRSV), Tobacco necrosis (TNV), Tomato ringspot (ToRSV) y Tomato black ring (TBRV). Además, se implementó un sistema de saneamiento de plantas por cultivo in vitro de meristemas. Esta primera aproximación es de utilidad para establecer las bases del programa de mejoramiento genético y de la comprensión de los mecanismos involucrados en la interacción planta-virus en esta especie nativa.

**39. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE MEGALINA POR AGONISTAS DE FXR Y PPARs** (Regulation of megalin expression by FXR and PPARs agonists) Ramos, B<sup>1</sup>, Zuñiga, S<sup>1</sup>, Ananthanarayanan, M<sup>2</sup>, Arrese, M<sup>3</sup>, Bronfman, M<sup>1</sup>, Marzolo, M<sup>1</sup>. Centro FONDAF de Regulación Celular y Patología (CRCP), Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, The Mount Sinai Medical Center, New York, NY, 10029<sup>2</sup>, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>3</sup>. Patrocinante: Bronfman, M.

**Objetivos:** Megalina es un receptor endocítico responsable de importantes eventos fisiológicos, e involucrado en patología renal y biliar. Su regulación génica ha sido poco estudiada. En su secuencia promotora encontramos sitios putativos de unión a receptores nucleares FXR y PPAR. Quisimos evaluar la participación de estos receptores en la expresión de megalina. **Metodología:** Luego de realizar tratamiento con agonistas PPARs y FXR, se midió la expresión de megalina (western blot y RT-PCR en líneas celulares e in vivo) y la actividad de su promotor (por ensayos de luciferasa en líneas celulares). **Resultados:** Observamos un aumento en la actividad del promotor de megalina al co-tratar líneas celulares con agonistas PPARalfaPXR y PPARgamaPXR. Al co-transfectar células con FXR aumentó la actividad del promotor. En cultivo aumentó la expresión de megalina al tratar líneas celulares con agonistas FXR y PPARalfa y gama. In vivo, aumentó la expresión de megalina renal y en vesícula biliar en ratones tratados con agonista PPARgama. Observamos además que la expresión basal de megalina renal y biliar está disminuida en ratones FXR-. La activación del promotor de megalina y niveles de proteína no se vieron afectados por tratamiento con agonista PPARbeta. **Conclusión:** Dados estos resultados, FXR, PPARalfa y gama ejercerían un rol inductor en la expresión de megalina a través de la regulación de su promotor, no así agonistas PPARbeta. Dada la importancia fisiológica de megalina, el conocimiento de su regulación génica es relevante en el estudio de su participación en patología renal y biliar. (FONDECYT 1070373. FONDAF 13980001).

## EXPRESIÓN GÉNICA, SEÑALIZACIÓN CELULAR

**38. ASOCIACIÓN DE ACETILASAS DE HISTONAS EN REGIONES DE QUIEBRES CROMOSOMALES** (Histone Acetyltransferases (HATs) association in breakpoints cluster regions (BCRs)) Stuardo, M<sup>1</sup>, Martínez, M<sup>2</sup>, Gutiérrez, S<sup>2</sup>. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>, Universidad de Concepción<sup>2</sup>.

Una de las translocaciones cromosómicas más frecuentes en leucemia mieloide aguda (AML) es la translocación t(8;21) que involucra a los genes RUNX1 y ETO. Las regiones donde se produce el quiebre cromosomal (BCRs) en estos genes están localizadas en los intrones 5 y 1, respectivamente. Hasta la fecha, no se han encontrado secuencias de homología o recombinogénicas que expliquen la formación de esta translocación. Por consiguiente, nuestra hipótesis de trabajo propone que la conformación de cromatina presente en las regiones BCRs de los genes RUNX1 y ETO es determinante para la formación de t(8;21). Resultados anteriores de nuestro laboratorio demuestran que, en células HL-60, la organización cromatínica de las regiones BCRs del gen RUNX1 se caracteriza por la presencia de histonas H3 y H4 acetiladas y ausencia de la histona H1. Con el fin de identificar las acetilasas de histonas responsables de la presencia de estas modificaciones en esta zona del gen, analizamos la asociación de p300 y PCAF en las regiones BCRs. Nuestros resultados proveen información acerca de los factores modificadores de histonas que permiten el establecimiento y mantención de la particular estructura de cromatina encontrada en los sitios de quiebres de RUNX1.

**40. CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN ACE1 DEL BASIDIOMICETE *CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA*** (Cloning and characterization of the basidiomycete *Ceriporiopsis subvermispora* Ace1 transcription factor) Álvarez, J<sup>1</sup>, Ávila, M<sup>1</sup>, Mancilla, R<sup>1</sup>, Canessa, P<sup>1</sup>, Vicuña, R<sup>1</sup>. Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile Instituto Milenio-MIFAB y Fondecyt (1070558)<sup>1</sup>.

*Ceriporiopsis subvermispora* es un hongo basidiomicete cuya maquinaria ligninolítica está compuesta por lacasa e isoenzimas de manganeso peroxidasa (MnP). Mediante estudios de expresión hemos demostrado que los niveles de transcrito de los genes que codifican para lacasa y MnP2b aumentan con la adición de Cu<sup>2+</sup> al medio de cultivo. Para conocer el mecanismo de esta regulación, analizamos los promotores de estos genes. Ambos poseen una secuencia con alta similitud al sitio de unión para el factor de transcripción ACE1 descrito en levadura, denominado ACE. En este microorganismo, dicho factor, al unirse a este sitio, activa la transcripción de genes involucrados en la homeostasis de cobre. Utilizando la secuencia del gen que codifica para el factor de transcripción Ace1 de *Phanerochaete chrysosporium*, hemos logrado clonar un gen tipo Ace1 de *C. subvermispora* (Cs-ace1). Este gen posee 5 intrones y codifica para una proteína de 337 aminoácidos cuyo extremo amino terminal presenta una alta identidad con el dominio de unión a DNA presente en factores de transcripción de respuesta a cobre. Estudios de complementación con una cepa de levadura mutante en su gen ace indican que el cDNA de Cs-ace1 codifica por un factor de transcripción tipo Ace1 funcional.

**41. EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN C-EBPB REGULA LA ACTIVIDAD DEL PROMOTOR P1 DE RUNX2** (The transcription factor C-EBPb regulates the activity of the RUNX2 P1 promoter) Hepp, M<sup>1</sup>., Henríquez, B<sup>1</sup>., Cruzat, F<sup>1</sup>., Olate, J<sup>1</sup>., Montecino, M<sup>1</sup>.. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.<sup>1</sup>.

Las proteínas RUNX son una familia de factores de transcripción que poseen un dominio de unión al ADN homólogo al dominio Runt de *Drosophila*. El gen que codifica para RUNX2 posee dos regiones promotoras (P1 y P2) las que comandan la expresión de 2 isoformas de esta proteína (tipos I y II). El promotor P1 regula la expresión de la isoforma tipo II de RUNX2, la cual es óseo específica. El análisis in silico de el promotor P1, sugiere la presencia de sitios de unión consenso para el factor de transcripción C-EBPb (CCAAT-enhancer binding protein beta), el que podría regular la expresión de RUNX2 II en células óseas. En este trabajo se determinó que C-EBPb se une específicamente invitro al promotor P1 en ensayos de retardo en gel (EMSA). Esta unión fue confirmada en células intactas mediante ensayos de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). Finalmente, a través de estudios de expresión transitoria, se determinó que la sobre expresión de C-EBPb en células óseas aumenta la actividad del promotor P1 de RUNX2. En su conjunto, estos resultados indican que el factor de transcripción C-EBPb regula positivamente la expresión del gen RUNX2 II en células osteoblásticas..

**42. VALIDACION DE GENES DE REFERENCIA PARA EVALUAR LA EXPRESION DIFERENCIAL DE GENES EN CULTIVOS CELULARES INFECTADOS CON *PISCIRICKETSIA SALMONIS*** (Validation of reference genes to properly evaluate differential gene expression in tissue culture cells infected with *Piscirickettsia salmonis*) Pena, A<sup>1</sup>., Rojas, V<sup>1</sup>., Gonzalez, M<sup>2</sup>., Marshall, S<sup>1</sup>.. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso<sup>1</sup>, Instituto Antártico Chileno<sup>2</sup>. Patrocinante: Mercado, L. La expresión diferencial de genes en sistemas in vitro expuestos a agentes patógenos puede entregar información muy valiosa para diseñar estrategias de control contra el mismo. En estos estudios el uso de real-time PCR es clave para el análisis cuantitativo de variabilidad en los niveles de transcripción de genes estrictamente regulados. En PCR cuantitativo, los niveles de transcripción pueden ser medidos en relación a un gen referencia no regulado o «housekeeping». En consecuencia, es esencial tener la seguridad de que el gen referencia elegido sea verdaderamente invariable bajo las condiciones a analizar. El presente trabajo se enfoca en la validación por PCR cuantitativo de cinco genes housekeeping de la línea celular de salmonídeos CHSE-214 sometida a infección con el patógeno intracelular *Piscirickettsia salmonis*, cuyo estudio es de gran importancia para la acuicultura en nuestro país. Los cinco genes fueron seleccionados como potenciales estándares basados en la literatura y según las secuencias disponibles en bases de datos. Los genes seleccionados corresponden a: factor de elongación traduccional 1-alfa, beta-actina, gliceraldehido 3-fosfato dehidrogenasa, tubulina y ubiquitina. Los primers que permitieron las amplificaciones específicas, fueron diseñados sobre secuencias conocidas de los correspondientes exones. La evaluación fue realizada a tres tiempos post infección: 2, 5 y 10 días con sus respectivos controles. En estos periodos fue posible observar la evolución de la infección a través del efecto citopático de las células hospederas, por inmunodetección con anticuerpos específicos anti-*P.salmonis* y por la amplificación de secuencias específicas de la bacteria por PCR convencional. Financiamiento: PBCT SD08; Proyecto DI 122797.

43. RETIRADO

**44. ACETILACIÓN DE HISTONAS H3 Y H4 EN EL INTRON 5 DE RUNX1** (Acetylation of histones H3 and H4 in intron 5 of RUNX1) Martínez, M<sup>1</sup>., Alarcón, R<sup>1</sup>., Stuardo, M<sup>1</sup>., Gutiérrez, S<sup>1</sup>.. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción<sup>1</sup>. La t(8;21) es una translocación frecuente en leucemia mieloide aguda, que genera una proteína quimera, RUNX1-ETO, por la fusión de los genes RUNX1 y ETO, localizados en el cromosoma 21 y 8 respectivamente. Es iniciado por un quiebre en la doble hebra de DNA y se han descrito regiones específicas, denominadas regiones de quiebre cromosomal o BCRs, que en RUNX1 se localiza en el intrón 5, pero no se han encontrado elementos en la secuencia que expliquen este fenómeno, como la presencia de secuencias recombinogénicas o de homología, no obstante se observan elementos estructurales, como sitios de corte para topoisomerasa I, sitios hipersensibles a DNasa I, por lo tanto postulamos que la estructura de la cromatina sea determinante para el quiebre en la doble hebra de DNA en los BCRs. Utilizando la técnica de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) y detección por marcaje final indirecto en células HL-60 del tipo mieloide que expresa la proteína Runx1 y células HeLa que no expresan Runx1 hemos examinado la acetilación de histonas a lo largo del intrón 5 de RUNX1, encontrando que las histonas H3 y H4 se acetilan en lisinas específicas, que a su vez se han asociados con mecanismos epigenéticos..

**45. CARACTERIZACIÓN DEL GEN DE OROTIDINA-5-MONOFOSFATO DESCARBOXILASA (PYRG) DE *Penicillium Camemberti* CEPA CECT 2267, Y MODELAMIENTO MOLECULAR DE SU PROTEÍNA DEDUCIDA** (Characterization of the orotidine-5-decarboxylase gene (pyrG) from *Penicillium camemberti* strain CECT 2267, and molecular modelling of its deduced protein) Roa, A<sup>1</sup>, Navarrete, K<sup>1</sup>, Mascayano, C<sup>2</sup>, Valdes, C<sup>2</sup>, Chavez, R<sup>1</sup>. Depto de Biología<sup>1</sup> y Depto de Ciencias del Ambiente<sup>2</sup>, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Patrocinante: Eyzaquirre, J.

A pesar de su importancia industrial y potencial biotecnológico, no existe un sistema de transformación genético para *Penicillium camemberti*, el cual requiere cepas y marcadores apropiados que permitan el diseño de un sistema de transformación. Uno de los marcadores más usados corresponde al gen pyrG, que codifica la enzima orotidina-5-monofosfato descarboxilasa (OMPD). Este trabajo describe la caracterización del gen pyrG de *P. camemberti* cepa CECT 2267. El gen pyrG aislado mediante PCR usando primers degenerados, y Genome Walker, presenta un elevado grado de similitud con otras OMPD fúngicas. La secuencia nucleotídica exhibe gran variabilidad genética con el gen pyrG de *P. camemberti* cepa U-150, disponible en Genbank, pero la secuencia aminoacídica deducida es prácticamente idéntica. Tal variabilidad sería un hecho aislado, pues la secuencia de dos genes pyrG de otras cepas de *P. camemberti* no presentan diferencias significativas con la cepa CECT 2267. Experimentos de Northern blot indican que el gen se expresa constitutivamente tanto en medio mínimo como enriquecido, haciéndolo apto como marcador de selección. Dado que no existe datos de estructura tridimensional de ninguna OMPD en hongos filamentosos, se obtuvo un modelo tridimensional por homología de la proteína deducida usando como modelo la enzima de *Saccharomyces cerevisiae*. La proteína exhibe una estructura de tipo barril alfa-beta, con los loops característicos de otras OMPD de estructura conocida. Actualmente se diseña un modelo tipo docking con sustrato, para establecer los cambios conformacionales que experimenta la proteína, esenciales para realizar su actividad catalítica. FONDECYT 11060003 y DICYT-USACH.

**47. FOSFORILACIÓN DIFERENCIAL DE EGFR DESPUÉS DE SU TRANSACTIVACIÓN POR EL RECEPTOR DE VASOPRESINA** (Differential phosphorylation of the EGFR after its transactivation by the AVP receptor) Cárdenas, F<sup>1</sup>, Fuentes, L<sup>1</sup>, Reyes, C<sup>1</sup>, González, C<sup>1</sup>. Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, U.A.CH.<sup>1</sup>.

Vasopresina activa la proliferación celular por transactivación EGFR, puesto que esta acción es inhibida por AG1478, un inhibidor de la actividad tirosina quinasa de EGFR. Nosotros hemos demostrado que la transactivación del receptor de EGF, por el receptor V1 de AVP, ocurre por dos vías distintas; una que involucra a metaloproteinasas y otra a c-Src. Para determinar la diferencia entre estos dos vías de transactivación se usó la línea celular A10 derivada de músculo liso vascular que expresa endógenamente, tanto los receptores de vasopresina como de EGF, y se evaluó la fosforilación del EGFR. Las células fueron estimuladas con AVP y mediante western blotting, usando anticuerpos específicos, se evaluó la fosforilación de los residuos Y845, Y1068 e Y992. Los 2 primeros residuos se fosforilan, después del estímulo con AVP, mientras que el último no. La cinética de fosforilación después de la transactivación es diferente a aquella cuando las células son estimuladas con EGF. Cuando se inhibió c-Src y se estimulo con AVP ambos residuos no son fosforilados. En cambio, al inhibir las metaloproteinasas y estimular con AVP sólo se inhibe el residuo Y1068; indicando que estas vías de transactivación, es decir aquella que involucra a las metaloproteinasas y aquella que implica a c-Src, producen una fosforilación diferencial de EGFR. Financiado por FONDECYT 1060158 y DIUACH.

**46. IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS QUE INTERACCIONAN CON RIC-8 DE *XENOPUS LAEVIS*** (Identification of proteins that interact with *Xenopus laevis* Ric-8) Lara, P<sup>1</sup>, Torrejon, M<sup>1</sup>, Figueroa, M<sup>1</sup>, Pasten, P<sup>1</sup>, Montecino, M<sup>1</sup>, Hinrichs, M<sup>1</sup>, Olate, J<sup>1</sup>. Anillo de Investigación en Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.<sup>1</sup>.

Ric-8 es una proteína evolutivamente muy conservada, la cual posee actividad GEF sobre diversas subunidades G $\alpha$  monoméricas, es decir, estimula el intercambio de GDP por GTP, manteniendo a estas proteínas en su conformación activa unida a GTP. Estudios recientes han demostrado que Ric-8 se encuentra participando en diversos procesos, tales como la división celular asimétrica y la liberación de neurotransmisores. Además, en nuestro laboratorio, se descubrió que Ric-8 de *Xenopus laevis* (xRic-8) cumple una función muy importante en la mantención del estado inmaduro de los ovocitos, a través de su actividad GEF sobre G $\alpha$ s. Debido a las interesantes funciones que esta proteína cumple, sumado al escaso conocimiento que se tiene sobre su mecanismo de acción, nos planteamos como objetivo de este trabajo buscar proteínas que interaccionen físicamente con xRic-8. Para ello, realizamos un análisis por doble híbrido en levadura, utilizando xRic-8 como «bait» y una genoteca de ovocito de *X. laevis*, construida en fusión al dominio de activación transcripcional de GAL4, como «prey». Del total de clones positivos analizados, cuatro de ellos codifican para proteínas cuya interacción con Ric-8 no había sido descrita anteriormente, las cuales son: G $\alpha$ 11, Dasra A, Incenp y Archain 1. La interacción entre estas proteínas y xRic-8 está siendo corroborada mediante análisis por «GST-pulldown». Financiamiento: Proyecto Anillo de Investigación ACT-44.

**48. IL-3 ESTIMULA LA VIABILIDAD CELULAR EN HEK293 SOMETIDAS A ESTRÉS OXIDATIVO** (IL-3 prevents cellular death induced by oxidative stress in HEK 293) López, C<sup>1</sup>, Zamorano, P<sup>1</sup>, Solis, L<sup>1</sup>, Jara, M<sup>1</sup>, Zambrano, A<sup>1</sup>. Instituto de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile<sup>1</sup>. Patrocinante: Concha, I.

Interleuquina 3 es una citoquina pleiotrópica muy bien caracterizada, es secretada por células T activas cuya función ha sido ampliamente estudiada en linaje hematopoiético. Posee gran importancia en la proliferación, maduración y diferenciación de células progenitoras, destacándose su participación en la inhibición de la muerte por apoptosis y la mantención del metabolismo celular. Es importante destacar que ambas subunidades para este receptor son expresadas en varios tipos celulares no hematopoiéticos, sin embargo, es poco lo que se sabe de la función de esta citoquina en éstos sistemas. En este estudio hemos confirmado la presencia de ambas subunidades del receptor para IL-3 (IL-3R alpha e IL-3R beta), tanto a nivel proteico como de RNA mensajero en células HEK 293. Estos receptores son activos funcionalmente dado que la unión de IL-3 a su receptor desencadena la activación de las vías clásicas de transducción de señales descritas en modelos hematopoiéticos. Estudios de viabilidad celular; como MTT, y de apoptosis celular; como la técnica de TUNEL, fragmentación de PARP y activación de caspasa 3, muestran que esta citoquina posee actividad anti-apoptótica en estas células expuestas a estrés oxidativo. En conclusión en estos estudios IL-3 es capaz de disminuir significativamente la muerte celular inducida por este estrés. Financiamiento proyecto FONDECYT 11060180, DID UACH.

## MICROBIOLOGÍA

**49. EFECTO PROTECTOR DEL ÓXIDO NÍTRICO (NO) EN HÍGADO DE RATAS.** ((Protective effect of nitric oxide in rat liver.) Cornejo, P<sup>1</sup>, Videla, L<sup>2</sup>, Fernández, V<sup>2</sup>. Facultad de Cs. de la Salud, Universidad Diego Portales ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile<sup>1</sup>, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile<sup>2</sup>.

El NO, importante molécula de señalización celular a nivel hepático y generada principalmente por la NO sintasa inducible (iNOS), regula la actividad de unión al DNA del NF-kappaB, factor de transcripción redox-sensible. Este trabajo evaluó el efecto de la inhibición de la iNOS hepática sobre parámetros de estrés oxidativo (EO) [relación GSH/GSSG y proteínas oxidadas (Pox)], en relación a cambios tanto en la actividad de unión del NF-kappaB al promotor de la iNOS como en la morfología hepática, de ratas tratadas (4, 6 y 8 semanas) con (G)-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), inhibidor competitivo de la NOS. Respecto a controles, el tratamiento con L-NAME (a) incrementó significativamente las Pox hepáticas (grupos de 4 y 8 semanas), (b) disminuyó la relación GSH/GSSG (grupos de 4 y 6 semanas), sin cambios en el contenido total de glutatión hepático y (c) incrementó la actividad de unión del NF-kappaB al promotor de la iNOS, junto con la aparición de focos inflamatorios hepáticos en el grupo de 8 semanas. Se concluye que niveles basales de NO mantienen la condición normóxica hepática y que niveles reducidos de esta especie gatillan el EO y la respuesta inflamatoria hepática, con incrementos en la actividad de unión del NF-kappaB al promotor de la iNOS, lo que podría aumentar la síntesis de iNOS. FONDECYT 1030499.

**50. EXPRESIÓN DEL FACTOR RPO S EN LA RESPUESTA AL ESTRÉS DE SALMONELLA TYPHI** (The expression of RpoS factor in the stress response of *Salmonella Typhi*) Retamal, P<sup>1</sup>, Castro, D<sup>1</sup>, Castillo, M<sup>2</sup>, Fuentes, J<sup>1</sup>, Mora, G<sup>3</sup>. Doctorado en Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Doctorado en Biotecnología, Universidad Andrés Bello<sup>2</sup>, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello<sup>3</sup>.

El factor sigma alternativo RpoS se ha descrito como un regulador global de la expresión génica en bacterias. Se ha determinado que se expresa a partir de la fase logarítmica tardía y alcanza un máximo durante la fase de crecimiento estacionaria, regulando la expresión de una serie de genes que participan en la resistencia al estrés. Se han descrito múltiples mecanismos de regulación de la expresión de este gen, y recientemente la interacción PhoP-RpoS en *Salmonella Typhimurium*. **Objetivo:** Caracterizar en *S. Typhi* la expresión de RpoS en condiciones de estrés. **Métodos:** se utilizó el gen reportero katE::lacZ, evaluando la cepa *S. Typhi* STH2370 y las mutantes rpoS::pRR10, PhoP::cam, la doble mutante y las cepas complementadas. Se evaluó pH 5 y pH 7 en crecimiento logarítmico y estacionario. **Resultados:** Se confirmó la expresión de RpoS en la cepa STH2370 en las fases logarítmica tardía y estacionaria. En estrés ácido se observó su inducción en fase logarítmica temprana y se verificó además un efecto represor de PhoP sobre la función de RpoS en ambas fases de crecimiento. **Conclusión:** En *S. Typhi* el factor sigma RpoS se expresa en función de la fase de crecimiento, acidez y en contraposición a lo descrito previamente en *S. Typhimurium*, RpoS es reprimido por PhoP. **Agradecimientos:** A los Drs. Stanley Maloy y Eduardo Groisman por facilitarnos gentilmente algunas cepas. Trabajo financiado por proyecto FONDECYT 1060999. PR, DC y JF son becarios PUC. MC es becario CONICYT.

**51. PARTICIPACIÓN DE GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA (G6PDH) EN RESPUESTA AL ESTRÉS OXIDATIVO GENERADO POR K<sub>2</sub>TEO<sub>3</sub>.** (G6PDH participation in response to K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>-generated oxidative stress.) Sandoval, J<sup>1</sup>, Pradenas, G<sup>1</sup>, Acuna, L<sup>1</sup>, Vasquez, C<sup>1</sup>. Universidad de Santiago de Chile<sup>1</sup>.

El telurito de potasio (K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>) es un oxianión altamente tóxico para la mayoría de los microorganismos. Recientemente hemos demostrado que parte de esta toxicidad se debe a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), específicamente anión superóxido. Para hacer frente al daño oxidativo, *Escherichia coli* ha desarrollado diferentes respuestas moleculares con el objeto de disminuir el efecto tóxico de estos compuestos, a saber: (a) eliminación directa de la(s) ROS; (b) expresión de enzimas de reparación y (c) síntesis de poder reductor en forma de NADPH. Indirectamente, diversos estudios realizados por nuestro grupo y otros, apoyan la idea que el NADPH jugaría un rol importante en la respuesta al daño celular provocado por K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>. Por ejemplo, se ha demostrado que la reducción enzimática del oxianión consume NADPH. Analizando la respuesta antioxidante a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> en *E. coli* BW25113 hemos encontrado que existe un aumento de la actividad G6PDH, enzima responsable de la síntesis de NADPH durante el estrés oxidativo. Adicionalmente, células vegetales en cultivo (BW25113 zwf::kan) resultaron ser extremadamente sensibles a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>. Por el contrario la sobreexpresión de zwf generó un fenotipo levemente resistente. Los resultados permiten sugerir que la actividad enzimática de G6PDH, a través de la síntesis de NADPH, participa en la respuesta antioxidante frente a K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> en *E. coli*. Financiamiento: Fondecyt 1060022 y Dicyt-USACH.

**52. EXPRESIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA PRODUCTOR DEL PEPTIDO ANTIBACTERIANO MICROCINA 24** (Expression and characterization of the antibacterial peptide microcin 24 system) Saavedra, J<sup>1</sup>, Corsini, G<sup>1</sup>. Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. Santiago. Chile. <sup>1</sup>.

Las microcinas son un grupo de bacteriocinas de bajo peso molecular (inferior a 10 kDa) producidas principalmente por bacterias entéricas, que presentan actividad bacteriostática o bactericida sobre especies estrechamente relacionadas con aquellas que las producen. La microcina 24 es una bacteriocina producida por la cepa uropatógena *E. coli* 2424. Los determinantes genéticos para síntesis de la microcina 24 están contenidos en un fragmento de DNA de 5,25 kb que posee 5 ORFs (mdbA, mtfI, mtfS, mtfA y mtfB). Mediante subclonamiento, mutagénesis por transposición y complementación genética se determinó que mtfS codifica para la microcina 24, mtfI para la proteína de inmunidad y mtfA y mtfB están implicados en la exportación de esta microcina. Mediante experimentos de RT-PCR se determinó que mtfI y mtfS se transcriben juntos en un mRNA bicistrónico y que se expresa tanto en fase exponencial como estacionaria de crecimiento. Usando ensayos de actividad antibacteriana se determinó que la microcina comienza a producirse cuando la bacteria esta en fase exponencial de crecimiento. Mediante cromatografía en columna hidrofóbica C18 (Sep-PackC18) y HPLC en fase reversa se purificó la microcina 24. Los análisis de actividad indican que la microcina 24 es activa a pH inferior a 5,3 y es resistente a tripsina y quimiotripsina, pero sensible a proteinasa K. Mediante espectrometría de masa se determinó que este péptido antimicrobiano posee una masa molecular de 7274.UDP-VRA Proyecto Semilla CG13.03.25.007.

**53. PISCIRICKETTSIA SALMONIS INDUCE APOPTOSIS DE MACRÓFAGOS DE SALMÓN EN CULTIVO.** (*Piscirickettsia salmonis* infection induces apoptosis on salmon macrophage cell culture.) Rojas, M<sup>1</sup>., Galanti, N<sup>2</sup>., Marshall, S<sup>1</sup>.. Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso<sup>1</sup>, Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile<sup>2</sup>.

*Piscirickettsia salmonis* es una bacteria intracelular obligada que produce el síndrome rickettsial del salmón, enfermedad que provoca alta mortalidad en salmones e importantes pérdidas en la industria salmonera. Sobre esta patología, se desconocen la mayor parte de los mecanismos de interacción del patógeno con la célula hospedera. Patógenos intracelulares utilizan diversas estrategias para escapar del sistema inmune y colonizar tejidos específicos del hospedero. Algunos virus y bacterias inducen apoptosis de células del sistema inmune impidiendo que éstas limiten la infección. En este contexto, se estudió la inducción de apoptosis como posible mecanismo asociado a la infección por *P. salmonis*. Se utilizó como modelo una línea celular establecida de macrófagos de salmón que forman parte del sistema inmune innato de peces. La línea RTS11 derivada de bazo de trucha arcoiris presenta 2 poblaciones celulares: macrófagos adheridos a sustrato y monocitos en suspensión. Se infectaron monocapas subconfluentes de macrófagos y a tiempos tempranos, medios y tardíos de infección, se analizaron diferentes parámetros indicadores de apoptosis, y la presencia de la bacteria con anticuerpos anti-*P. salmonis*. Cambios morfológicos observados por MET, fragmentación del DNA detectada por TUNEL, y exposición de fosfatidilserina en la membrana plasmática, indican que la infección con *P. salmonis* induce apoptosis en macrófagos de cultivo. Este proceso depende al menos de la activación de la caspasa ejecutora 3. Los resultados sugieren que *P. salmonis* podría evadir la primera línea de defensa del sistema inmune de salmónidos modulando la población de macrófagos, favoreciendo así la patogénesis de la enfermedad..

**55. INESTABILIDAD DE ISLA DE PATOGENICIDAD SPI-8 DE SALMONELLA TYPHI COMO EJEMPLO DE PLASTICIDAD GENÓMICA** (Excision of pathogenicity island SPI-8 of *S. Typhi* as example of genomic plasticity) Castro, D<sup>1</sup>., Retamal, P<sup>1</sup>., Fuentes, J<sup>1</sup>., Mora, G<sup>2</sup>.. Doctorado en Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello<sup>2</sup>.

SPI-8 es una región genómica de *S. Typhi* involucrada en resistencia a distintos tipos de estrés relacionados con patogenicidad. El análisis bioinformático de la isla reveló la existencia de características típicas de un elemento genético inestable. En ella se encuentra un ORF con identidad nucleotídica de una recombinasa de fago y además secuencias repetidas directas de 16 pb de largo con una alta identidad nucleotídica con las secuencias repetidas directas presentes en la región inestable SPI-7 de *S. Typhi*. **Objetivo:** comprobar que la isla SPI-8 es inestable en el genoma de *S. Typhi*. **Resultados:** por bioinformática se determinó que la recombinasa es pseudogen por la presencia de múltiples codones stop. Se determinó la pérdida de la isla encontrándose tanto la cicatriz cromosomal de la escisión como el intermediario circular formado por la isla escindida. La cepa clínica STH2370 y la cepa referencia Ty2 pierden la isla en condiciones normales de crecimiento y en ambas cepas es posible rastrear la formación del intermediario circular. **Conclusión:** SPI-8 es una región inestable, posiblemente sustrato de recombinasas activas no asociadas a la isla y con indicios de estar en vías de fijarse en el genoma de *S. Typhi*. Financiado por FONDECYT 1060999. DC, PR y JF son Becarios PUC.

**54. APOH-CAPTURE TECHNOLOGY ENHANCES ANDES HANTAVIRUS AND HEPATITIS C DETECTION ALLOWING VIRUS CONCENTRATION FROM COMPLEX BIOLOGICAL SAMPLES.** (APOH-CAPTURE TECHNOLOGY ENHANCES ANDES HANTAVIRUS AND HEPATITIS C DETECTION ALLOWING VIRUS CONCENTRATION FROM COMPLEX BIOLOGICAL SAMPLES.) Pino, K<sup>1</sup>., Godoy, P<sup>2</sup>., León, U<sup>1</sup>., Stefán, E<sup>3</sup>., Ferres, M<sup>2</sup>., Soza, A<sup>4</sup>., Veas, F<sup>5</sup>., López-Lastra, M<sup>1</sup>.. Laboratorio Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>1</sup>, Laboratorio de Infectología y Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>2</sup>, ApoH Technologies, France.<sup>3</sup>, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>4</sup>, Viral and Molecular Immunology Laboratory, U178IRD, France.<sup>5</sup>.

Human apolipoprotein H (ApoH) is a constituent of human plasma (0.2 mg/μl). ApoH binds to negatively charged surfaces including heparin, DNA, cell membranes, endothelial cells, macrophages and acidic phospholipids. Several reports show that ApoH interacts with viral proteins such as the hepatitis B virus antigen (HBV-Ag) and proteins p18, p26, gp160 of the human immunodeficiency virus (HIV). Interestingly, studies involving binding to HBV-Ag suggest that ApoH specifically binds DNA-containing HBV particles, thus discriminating between active replicating virus and empty non-infectious particles. These findings prompted us to assess a possible interaction between ApoH two viruses of extreme medical significance such as Andes virus (ANDV), the major etiological agent of Hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS) in South America and the Hepatitis C virus (HCV). We report that both HCV and ANDV interact with ApoH. Moreover, we show that when fixed to a solid matrix ApoH can be used to capture and concentrate both viruses from complex biological samples, allowing their detection by both immunological and molecular approaches. This work was supported by the JEAI-IRD initiative, grants PBCT0702007 to MLL and USDEP (LSHB-CT-2006-037560) to MLL, FV and ES. MLL is member of the Nucleo Milenio NMII..

**56. ELEMENTO CIS-REGULADOR PRESENTE EN EL GENOMA DE HIV-1 INHIBE LA ACTIVIDAD DEL IRES DE HIV-1** (cis-acting ELEMENT PRESENT WITHIN THE HIV-1 GENOME INHIBITS HIV-1 IRES Activity) Valiente-Echeverría, F<sup>1</sup>., Ramdohr, P<sup>1</sup>., Vollrath, V<sup>1</sup>., López-Lastra, M<sup>1</sup>.. Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

El mRNA completo del virus de la inmunodeficiencia adquirida (HIV-1), que codifica para las proteínas estructurales Gag y Gag-Pol, posee una región 5' no traducida (UTR), o líder, muy estructurada que contiene elementos que participan en diferentes etapas del ciclo replicativo viral. Entre estos elementos se destaca un sitio interno de entrada del ribosoma, IRES, que permite reclutar el complejo de iniciación de la traducción de manera independiente al extremo 5' del mRNA. El mecanismo molecular involucrado en la regulación de la actividad del IRES-1 de HIV-1 aún no ha sido dilucidado. Sin embargo, diversos estudios han documentado la existencia de elementos moduladores de la actividad traduccional presentes a lo largo del mRNA de HIV-1. Mediante ensayos de traducción in vitro usando lisados de reticulocitos de conejo complementados con extractos en G2M generamos resultados que sugieren que en la región codificante para la proteína viral Gag existe al menos un elemento cis-regulador capaz de inhibir la iniciación de la traducción dependiente del IRES de HIV-1. **Financiamiento:** Fondecyt proyecto 1060655; JEAI-IRD. MLL pertenece al núcleo milenio NMII. FVE es Becario CONICYT y pertenece al programa de Doctorado en Microbiología de la Universidad de Santiago de Chile..

**57. ESTUDIO DEL MECANISMO DE TRADUCCIÓN DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA** (Study of the translation mechanism of Infectious Pancreatic Necrosis Virus) Reinoso, C<sup>1</sup>, Muñoz, P<sup>1</sup>, Sandino, A<sup>1</sup>. Laboratorio de Virología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile<sup>1</sup>. Patrocinante: López-Lastra, M.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV), que afecta a salmónidos, pertenece al género Aquavirnavirus y a la familia Birnaviridae. Su genoma de RNA doble hebra bisegmentado codifica para las proteínas constituyentes del virión. Su mecanismo de traducción es desconocido, sin embargo se ha determinado que sus mRNAs carecen de estructura 5'Cap, esto sugiere que su mecanismo de traducción es independiente de Cap. Mediante análisis bioinformáticos del extremo 5'UTR del segmento A viral se identificaron estructuras secundarias estables semejantes a sitios internos de entrada del ribosoma (IRES). Para determinar la funcionalidad de estos IRES, se utilizaron vectores bicistrónicos en cuya región intercistrónica se insertó el extremo 5'UTR por sí solo y con parte de la región codificante del segmento A viral. Los vectores recombinantes fueron usados como templado en un sistema de transcripción in vitro, generando mRNAs en presencia y ausencia de una estructura 5'Cap, estos mRNAs fueron traducidos in vitro y las proteínas generadas fueron detectadas por la incorporación de 35S-metionina y visualizadas por autoradiografía. La expresión del segundo cistrón permitió evaluar la capacidad de las secuencias insertadas para promover la unión interna del ribosoma. Los resultados demostraron que la región 5'UTR del segmento A de IPNV por sí sola es suficiente para la traducción del segundo cistrón.

**58. CARACTERIZACIÓN DE LA TRADUCCIÓN IRES-DEPENDIENTE DE HIV-1** (Characterization of HIV-1 IRES-dependent translation) Ramdohr, P<sup>1</sup>, López-Lastra, M<sup>1</sup>. Laboratorio de Virología Molecular. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

El virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (HIV-1), pertenece al género Lentivirus de la familia de los Retroviridae. HIV-1, se replica a través de un intermediario de DNA, el cual se integra en el DNA cromosómico del hospedero. Una vez integrado, el provirus utiliza la RNA polimerasa II celular para la síntesis de sus RNA mensajeros (mRNA), que poseen Cap (m7GpppN) y cola poli(A). A diferencia de los mRNA celulares una población de los transcritos virales no sufre maduración dando origen al RNA completo de HIV-1. El estudio del mecanismo de traducción del mRNA completo de HIV-1 demostró que durante el la fase G2M del ciclo celular la iniciación de la traducción esta mediada por un sitio interno de entrada de ribosomas (IRES). El mecanismo molecular responsable del reclutamiento de la subunidad 40S ribosomal por parte del IRES de HIV-1 es desconocido. En este estudio se evaluó la traducción del IRES en lisado de reticulocito de conejo complementado con extractos citoplasmáticos de células HeLa arrestadas en G2M, validando la actividad IRES en HIV-1. Más aún, con el fin de caracterizar el mecanismo de reclutamiento de la subunidad 40S ribosomal sobre el mRNA viral se evaluó el efecto de Edein, droga que inhibe el reconocimiento del codón de inicio por parte de las subunidades 40S ribosomales que migran desde el extremo 5' del mRNA, sobre la eficiencia de iniciación de la traducción mediada por el IRES de HIV-1. Financiamiento: Fondecyt 1060655, JEAI-IRD, MLL es miembro del Núcleo Milenio NMII.

**59. SELECCIÓN DE MUTANTES DEFICIENTES EN EL GEN DE NITRATO REDUCTASA (NIAD-) EN HONGOS DE QUESO Y CLONAMIENTO PARCIAL DE LOS GENES MARCADORES RESPECTIVOS** (Selection of deficient mutants of nitrate reductase gene (niaD-) from cheese-ripened fungus and partial cloning of the own marker genes) Navarrete, K<sup>1</sup>, Espinosa, Y<sup>1</sup>, Martín, J<sup>2</sup>, Chavez, R<sup>1</sup>. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile<sup>1</sup>, Instituto de Biotecnología, León, España<sup>2</sup>. Patrocinante: Eyzaguirre, J.

En *Penicillium camemberti* y *Penicillium roqueforti* no existen sistemas de transformación por complementación. Para esto, es necesario disponer de cepas y marcadores de selección apropiados. Entre los sistemas de transformación fúngicos, destaca la complementación de la incapacidad de metabolizar nitrato por parte del gen niaD. Este trabajo describe los avances para la obtención, como hospederos para autoclonación, de mutantes niaD de *P. roqueforti* y *P. camemberti*, y de sus genes respectivos. Esporas de estos organismos fueron irradiadas con luz UV y seleccionadas en medio conteniendo clorato (análogo tóxico del nitrato donde sólo aquellas esporas viables y que no metabolizan nitrato pueden crecer) sin obtener resultados positivos. Como segunda estrategia, se aplicó un protocolo de enriquecimiento. Usando este protocolo en *P. roqueforti*, se encontraron dos mutantes niaD- estables (niaD20 y niaD27), los que sólo crecen en fuentes de nitrógeno más reducidas que el nitrato. En *P. camemberti* se está siguiendo el mismo protocolo para obtener un mutante estable. Paralelamente se trabaja en el aislamiento del gen niaD en ambos organismos. En *P. camemberti*, se ha aislado una secuencia de 1551 nucleótidos conteniendo 4 posibles intrones. La secuencia aminoacídica deducida muestra alta similitud con el dominio de unión a molibdeno característico de las nitrato reductasas eucariontes, incluyendo la cisteína encargada de la unión del metal. En *P. roqueforti* se ha obtenido un fragmento de 500 pb que correspondería a parte del gen de niaD de este organismo. Actualmente se está terminando la secuenciación de estos genes. Financiamiento: FONDECYT 11060003, DICYT-USACH, Puleva Biotechnologies.

**60. REACCIONES OXIDATIVAS EN LA SÍNTESIS DE LA GIBERELINA A4 POR EL HONGO *SPHACELOMA RHOIS***. (Oxidative reactions in GA4 biosynthesis by *Sphaceloma rhois*.) Fuentes, P<sup>1</sup>, Gonzalez, X<sup>1</sup>, Rojas, M<sup>1</sup>. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

El hongo filamentoso *Sphaceloma rhois* pertenece a uno de los 3 géneros de hongos productores de giberelinas (GAs, fitohormonas diterpénicas). Sintetiza exclusivamente GA4 a diferencia de otros sistemas fúngicos que producen GA3 o GA1. En este trabajo se determinó la secuencia de reacciones de la biosíntesis de GA4 en *S. rhois* mediante la identificación de los productos de metabolización de precursores marcados con 14C. La velocidad de utilización del ácido ent-7 $\alpha$ -OH-14C-kaurenoico disminuye en presencia de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> o glutamina. Varias de las reacciones oxidativas de la secuencia, relacionadas con la utilización del ác. ent-kaurenoico, presentan características asociadas a monooxigenasas P450. La distribución de productos en los experimentos de metabolización indica que tanto el ác. ent-7 $\alpha$ -OH-kaurenoico como GA12 aldehído y GA14 son intermediarios en la síntesis de GA4 mientras que no se detectaron intermediarios no hidroxilados. Esto indica que la reacción de hidroxilación en 3 $\beta$  ocurre en una etapa temprana de la secuencia metabólica, a nivel del GA12 aldehído y que la vía no-hidroxilada de síntesis de GA9 no es significativa en este sistema fúngico. La administración de 14C-GA4 a los cultivos líquidos confirmó la ausencia de las reacciones de desaturación 1,2 y de hidroxilación en C-13 en *S. rhois*. La secuencia de reacciones oxidativas de la biosíntesis de GA4 en *S. rhois* se asemeja a la descritas para la síntesis de esta giberelina en *Fusarium fujikuroi*, sistema fúngico en el que GA4 es un intermediario y no un producto final. Trabajo financiado por el Proyecto FONDECYT 1061127.

**61. PARTICIPACIÓN DE MONOOXIGENASAS P450 EN LA BIOSÍNTESIS DE GIBERELINAS POR *SPHACELOMA MANIHOTICOLA*.** (Participation of P450 monooxygenases in gibberellin biosynthesis by *Sphaceloma manihoticola*.) Castillo, A<sup>1</sup>, Troncoso, C<sup>1</sup>, Rojas, M<sup>1</sup>. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

El hongo *Sphaceloma manihoticola*, patógeno de la mandioca, genera la enfermedad de superelongación en esta planta debido a que produce la giberelina (GA) A4, una fitohormona diterpénica que modula el crecimiento vegetal. Administrando precursores radiactivos a cultivos líquidos del hongo determinamos la secuencia de reacciones que dan origen a este producto y a otras GAs, a partir del ácido ent-14C-kaurenoico. Este precursor sufre oxidaciones sucesivas en las posiciones C-7, C-3 y C-20, generando los productos finales 3 $\beta$ -hidroxilados y no hidroxilados 14C-GA12 y 14C-GA9 respectivamente. Se encontró que la velocidad de estas reacciones depende de la presencia de compuestos nitrogenados en el medio de cultivo. Las actividades de C-7 oxidada y de 3 $\beta$ -hidroxilasa de GAs se encontraron asociadas a la fracción microsomal, requieren de NADPH y FAD como cofactores y O<sub>2</sub> como agente oxidante. Esto, junto a la conversión del ácido ent-kaurenoico en kaurenolidos y del ác. ent-6 $\beta$ , 7 $\beta$ diOH-kaurenoico en ácidos fujenoicos, indica que estas reacciones son catalizadas por monooxigenasas asociadas al citocromo P450. El metilo ubicado en la posición C-20 del intermediario GA12 fue oxidado por los cultivos generando productos con distintos estados de oxidación: C-20 alcohol, C-20 aldehído, C-20 carboxilato y CO<sub>2</sub> más el producto 19,  $\gamma$ 10 lactónico. 14C-GA14 generó sólo el producto lactónico. La estructuración molecular de la biosíntesis de GA4 encontrada en *S. manihoticola* es similar a la descrita para *Fusarium fujikuroi*.

**63. EL PROTEOSOMA 20S PARTICIPA EN LA PROLIFERACIÓN DE *TRICHOMONAS VAGINALIS*** (20S proteasome is involved in proliferation of *Trichomonas vaginalis*) Muñoz, C<sup>1</sup>, Osorio, L<sup>1</sup>, Pérez, M<sup>1</sup>, Yañez, J<sup>1</sup>, Alvarado, E<sup>1</sup>, Neira, I<sup>1</sup>, Sagua, H<sup>1</sup>, Araya, J<sup>1</sup>, González, J<sup>1</sup>. Unidad de Parasitología, Universidad de Antofagasta<sup>1</sup>.

La tricomonosis urogenital humana es causada por el protozoo *Trichomonas vaginalis*. En células eucarióticas, los proteosomas son la principal proteasa citosólica. Nuestro objetivo fue identificar y caracterizar el proteosoma 20S de *T.vaginalis* y describir su papel en la biología del parásito. El estudio de la proliferación de *T. vaginalis* en presencia de inhibidores como MG-132, E-64, Calpeptina y Lactacistina mostró que inhibidores de proteosoma, pero no de cisteína proteinasas bloquearon la proliferación, sugiriendo que ésta es dependiente de la actividad de proteosoma. El proteosoma 20S de *T. vaginalis* purificado mediante cromatografía FPLC, mostró ser un complejo enzimático de 669 kDa que en SDS-PAGE migró en el rango de 18 kDa a 32 kDa. El estudio bioquímico reveló una alta actividad semejante a tripsina, moderada actividad semejante a quimi tripsina, y no mostró actividad semejante a caspasa. Lactacistina fue capaz de inhibir un 98.5 % de la actividad semejante a quimi tripsina y un 62.0% de la actividad semejante a tripsina. Estos hallazgos muestran, que a excepción de la ausencia de actividad semejante a caspasa, el proteosoma 20S de *T.vaginalis* posee características bioquímicas semejantes a las de otros proteosomas de parásitos y su función es probablemente esencial para la proliferación. Financiamiento: Proyecto Fundación Andes C-1395517.

**62. REACCIONES Y ENZIMAS DE LA BIOSÍNTESIS DE FITOHORMONAS DITERPÉNICAS EN EL HONGO *FUSARIUM KONZUM*.** (Chemical reactions and enzymes of diterpene phytohormone biosynthesis in *Fusarium konzum*) Ponce, I<sup>1</sup>, González, X<sup>1</sup>, Rojas, M<sup>1</sup>. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile<sup>1</sup>.

El hongo filamentoso *Fusarium konzum* es la única especie del complejo taxonómico *Gibberella fujikuroi*, además de *Fusarium fujikuroi*, que produce giberelinas (GAs). Las giberelinas fúngicas son diterpenos que modulan el crecimiento vegetal. Nos interesó caracterizar su biosíntesis en *F. konzum* a nivel de las transformaciones químicas y de las enzimas. El análisis de las GAs aisladas desde el cultivo demostró que el producto principal es GA1 junto con cantidades menores de GA3. Se detectó la formación de GA20, que no se ha descrito en *F. fujikuroi*. Los cultivos de *F. konzum* oxidaron los precursores ácido ent-14Ckaurenoico y 14C-GA12 aldehído para dar los productos 3 $\beta$ -hidroxilados 14C-GA4 y 14C-GA14. A diferencia de estos precursores, el intermediario 19,  $\gamma$ 10lactónico 14C-GA4 fue transformado parcialmente en 14C-GA1 y 14C-GA3, lo que sugiere que las etapas finales de la biosíntesis son lentas. La GA no hidroxilada 14C-GA12 fue transformada en 14C-GA9 (19,  $\gamma$ 10 lactona), 14C-GA25 (ácido tricarbóxico) y un producto posterior de oxidación que también se formó desde 14C-GA9. Esto sugiere que la hidroxilación en C13 ocurriría posteriormente a la oxidación de C20, sobre el producto lactónico. Las actividades de 7-oxidasa y de 3 $\beta$ -hidroxilasa de *F. konzum* fueron caracterizadas en fracciones microsomales. La secuencia biosintética de GAs en *F. konzum* es similar a la de *F. fujikuroi* en que la 3 $\beta$ -hidroxilación ocurre en una etapa temprana a nivel del GA12 aldehído. Se encontraron diferencias a nivel de las actividades de 13-hidroxilasa y 3 $\beta$ -hidroxilasa de GAs. Trabajo financiado por el Proyecto FONDECYT 1061127.

**64. FOSFATASA DE PROTEÍNA 2A PARTICIPA EN LA INVASIÓN DE *TRYPANOSOMA CRUZI*.** (Protein phosphatase 2A is involved in *Trypanosoma cruzi* invasión) Bugueño, D<sup>1</sup>, Osorio, L<sup>1</sup>, Muñoz, C<sup>1</sup>, Sagua, H<sup>1</sup>, Neira, I<sup>1</sup>, Araya, J<sup>1</sup>, González, J<sup>1</sup>. Unidad de Parasitología Universidad de Antofagasta<sup>1</sup>.

En *Trypanosoma cruzi* la diferenciación de tripomastigote a amastigote es dependiente de fosfatasa de proteína 2A (TcPP2A). No obstante la participación de TcPP2A en la invasión de *T. cruzi* no ha sido descrita. Células Vero y macrófagos humanos THP-1 fueron infectados con tripomastigotes de *T. cruzi* (cepa Y), preincubados o no, con ácido okadaico y el número de parásitos en 500 células fue determinado. Ratones hembras C3H, fueron infectados vía intraperitoneal con 106 tripomastigotes, incubados o no con ácido okadaico 10  $\mu$ M. y la parasitemia de los animales se determinó a partir del segundo día post infección. En los ensayos con células fagocíticas y no fagocíticas se observó inhibición de 50-70% en la invasión de los parásitos pretratados con ácido okadaico, respecto de los controles no tratados. En los ensayos de infección murina se observaron diferencias significativas entre las parasitemias de ratones infectados con parásitos pretratados con ácido okadaico, respecto de los controles infectados con parásitos no tratados (Valor-p = 0.006). Estos resultados sugieren que TcPP2A participa en la invasión celular de *T. cruzi*, ya que su inhibición mediante el pretratamiento del parásito con ácido okadaico, reduce significativamente la infectividad de *T. cruzi* tanto en el ratón como en células de cultivo. Financiamiento: Proyecto VRA 1321; Fundación Andes C 1395517.

## GENÉTICA MOLECULAR, BIOMEDICINA, INMUNOLOGÍA

**65. COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS DE PRECIPITACIÓN PARA ESTUDIOS DEL PROTEOMA DE PROTOZOOS PARÁSITOS** (Evaluation of three precipitation methods for protozoan parasite proteome studies) Osorio, L<sup>1</sup>, Muñoz, C<sup>1</sup>, Neira, I<sup>1</sup>, Sagua, H<sup>1</sup>, Araya, J<sup>1</sup>, González, J<sup>1</sup>. Unidad de Parasitología Universidad de Antofagasta<sup>1</sup>.

Los estudios de proteómica mediante electroforesis bidimensional son rápidos, reproducibles y sensibles. La preparación de la muestra es crucial y habitualmente se requiere precipitarla para eliminar interferentes. La eficiencia de estos abordajes no es conocida. Este trabajo compara tres métodos de precipitación: TCA-Acetona; Metanol-cloroformo y el kit «Perfect-FOCUS». Epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* fueron sonicados, centrifugados y 300 Åµg de proteína del sobrenadante fueron precipitados con cada método. Los pellets fueron solubilizados con tampón 2D y se dosaron las proteínas. Tiras de 7 cm (3-10 NL) fueron rehidratadas con 100 Åµg de proteínas y los gels teñidos con Coomassie-blue. La medición de proteínas en los precipitados solubilizados mostró que Perfect-FOCUS recuperó un 25,0% de las proteínas, metanol cloroformo un 66,0% y TCA-acetona un 44,5%. Cuando se compararon los gels bidimensionales, se observó la mejor resolución y número de spots correspondió al método de TCA-Acetona, seguido de Perfect-FOCUS. Lo anterior sugiere que la elección del método de precipitación es relevante y se relaciona directamente con la resolución y representación de las proteínas del proteoma. TCA-acetona aunque genera gels de mejor calidad no es apropiado cuando la limitante es la concentración de proteínas ya que su recuperación es menor de un 50%. Financiamiento: Proyecto VRA 1321; Fundación Andes C 1395517.

**66. DETERMINACIÓN DE UN PROBABLE EFECTO EN EL SPLICING, DE DOS VARIANTES ALÉLICAS EN ATM Y UNA EN BRCA1** (Determination of a probable effect on splicing, of two allelic variants in ATM and one in BRCA1) Castillo, E<sup>1</sup>, Tapia, T<sup>1</sup>, Carvallo, P<sup>1</sup>. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

Las mutaciones de codón de término en BRCA1 y BRCA2 son causa de un alto riesgo al cáncer de mama. También, variantes alélicas del gen ATM, han sido asociadas a cáncer de mama hereditario. El estudio de los genes BRCA1, BRCA2 y ATM en más de 80 familias chilenas con cáncer de mama reveló la presencia de diversas alteraciones en la secuencia de DNA, que no producen un codón de término, por lo cual su efecto funcional es desconocido. Nuestro objetivo fue determinar el posible efecto sobre el splicing de tres cambios nucleotídicos puntuales encontrados en los genes BRCA1 y ATM: IVS2-14 C>G, en el intrón 2 del gen BRCA1, y 2 cambios silentes en el gen ATM, c.2082 T>G en el exón 15 en el codón 694L, y c.2256 A>G en el exón 17, en el codón 752L. Para el estudio, se utilizó la técnica de exon trapping, utilizando el vector pSPL3 en el cual se inserta la secuencia a estudiar. Se transfectaron células COS-7, y luego de 48h se preparó RNA total. Se realizó un análisis por RT-PCR para analizar los productos del splicing. Sólo la variante c.2082 T>G, evidencia una alteración del splicing con la pérdida del exón 15 del gen ATM. A partir de linfocitos inmortalizados de esta misma paciente, se extrajo RNA total para su análisis por RT-PCR, mostrando la presencia del exón 15 en ambos alelos, lo cual indica diferencias relevantes en el splicing entre los dos tipos celulares. Fondecyt 1040779.

**67. EL ALELO ADH1C\*1 DE LA DESHIDROGENASA ALCOHÓLICA ES PROTECTOR CONTRA EL ALCOHOLISMO EN LA POBLACIÓN CHILENA** (The ADH1C\*1 allele of the alcohol dehydrogenase gene protects the Chilean population from alcoholism) Wolnitzky, J<sup>1</sup>, Sapag, A<sup>1</sup>, González, M<sup>2</sup>, Herrera, L<sup>3</sup>, Israel, Y<sup>1</sup>. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas e Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología (ICDB)<sup>1</sup>, Unidad de Dependencias, Clínica Psiquiátrica Universitaria, Hospital Clínico, Universidad de Chile<sup>2</sup>, Programa de Genética Humana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile<sup>3</sup>.

El 90% del alcohol ingerido es metabolizado en el hígado a acetaldehído por la deshidrogenasa alcohólica (ADH) y luego a acetato por la deshidrogenasa aldehídica (ALDH). Ambas poseen variantes polimórficas que difieren en sus propiedades catalíticas y distribuciones étnicas. Ciertas isoformas de la ADH (ADH1B\*2, ADH1B\*3 y ADH1C\*1) y de la ALDH (ALDH2\*2) son protectoras contra el alcoholismo; se postula que producen un aumento en el acetaldehído corporal luego del consumo de alcohol, desencadenando reacciones desagradables y evitando una ingesta excesiva de alcohol. La variante protectora de la ALDH se encuentra sólo en la población del este de Asia, mientras que aquellas de la ADH se encuentran en todo el mundo. Se estudiaron las frecuencias de las variantes protectoras de la ADH en dos grupos de población chilena: individuos normales (n=105) e individuos alcohólicos (n=30). Se analizó el gen ADH1B amplificando los exones 3 y 9 para estudiar mediante PCR-RFLP los nucleótidos determinantes de los aminoácidos 47 His/Arg, 56 Asn/Lys, 59 Ser/Thr y 369 Arg/Cys. En el gen ADH1C se estudiaron, en los exones 6 y 8, polimorfismos codificantes de los aminoácidos 271 Arg/Gln, 329 Pro/Pro, 351 Pro/Thr y 349 Ile/Val/Phe. En Chile las bajas frecuencias de los alelos ADH1B\*2 y ADH1B\*3 (<0,06) no permiten determinar si estos alelos protegen contra el alcoholismo. En cambio, el alelo ADH1C\*1, cuya frecuencia es significativamente mayor (p=0,038) en la población normal (0,76) que en los individuos alcohólicos (0,60), sí tiene un efecto protector contra el alcoholismo en la población chilena. (ICM P05-001-F).

**68. PARTICIPACIÓN DE ARGININAS-METILADAS EN LA TOLERANCIA A LA HIPOXIA HIPOBÁRICA INTERMITENTE CRÓNICA: MODELO CHILENO DE EXPOSICIÓN A LA ALTURA ?** (Participation of arginine-methylated in the tolerance to the chronic intermittent hypobaric hypoxia Chronic: Chilean miners model exposure to altitude ?) López, V<sup>1</sup>, Siques, P<sup>2</sup>, Brito, J<sup>2</sup>, Romo, E<sup>3</sup>, Pulido, R<sup>4</sup>, Paez, Y<sup>4</sup>. Centro de Investigación del Hombre en el Desierto- Universidad Arturo Prat<sup>1</sup>, Centro de Investigación del Hombre en el Desierto (CIHDE) - Universidad Arturo Prat<sup>2</sup>, Universidad Arturo Prat<sup>3</sup>, Universidad Arturo Prat<sup>4</sup>. Patrocinante: Uribe, E.

**INTRODUCCION:** La minería en Chile, se sustenta en la extracción de minerales realizadas a gran altura. Esto ha generado, la exposición de seres humanos a una condición denominada hipoxia hipobárica intermitente crónica (HHIC). Se ha descrito, que la hipoxia produce vasoconstricción del sistema circulatorio, con la finalidad de mejorar la difusión del O<sub>2</sub>. Sin embargo, si la hipoxia es crónica, se desarrolla hipertensión pulmonar. El óxido nítrico (NO), es el principal vasodilatador endotelio-dependiente, por lo tanto, es un factor clave en el desarrollo de hipertensión pulmonar. Se ha descrito que, pacientes con hipertensión pulmonar primaria, presentan una menor concentración plasmática de NO, asociado a un aumento significativo de metilarginina asimétrica (ADMA) y homocisteína, potentes inhibidores endógenos de la eNOS. En este trabajo, se evalúa el efecto de ADMA y homocisteína sobre la actividad arginasa. **METODOLOGIA:** En una cámara hipobárica (428 torr), se expusieron ratas a HHIC. Desde parénquima pulmonar de ratas tolerantes e intolerantes a la HHIC, se midió actividad arginasa, en presencia y ausencia de ADMA y homocisteína. **RESULTADOS:** Las cinéticas de inhibición, muestra que ADMA y homocisteína, se comportan como pobres inhibidores de la actividad arginasa. Sin embargo, éstos fueron activadores de la actividad arginasa de parénquima pulmonar de las ratas intolerantes. **CONCLUSION:** El efecto diferencial de ADMA y homocisteína sobre la vía de la arginasa, entre ratas tolerantes e intolerantes a la HHIC, permite sugerir una nueva vía de regulación para el desarrollo de hipertensión pulmonar de altura. Centro de Investigación del Hombre en el Desierto (CIHDE).

**69. ANALISIS FUNCIONAL DE VARIANTES AMINOACÍDICAS DE LA PROTEÍNA ATM EN LINEAS LINFOBLASTOIDES DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO** (Functional analysis of ATM aminoacidic variants on lymphoblastoid cell lines from hereditary breast cancer patients) Barriga, F<sup>1</sup>., Sanchez, A<sup>1</sup>., Faundez, P<sup>1</sup>., Carvallo, P<sup>1</sup>., Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>.

Se ha descrito que familias portadoras de mutaciones en el gen ATM poseen una mayor susceptibilidad a desarrollar cáncer de mama. El análisis de la secuencia del gen ATM, en 80 familias chilenas con cáncer de mama, describió la presencia de alteraciones que conducen a cambios de aminoácido y probables alteraciones en el splicing asociadas a esta patología. Nuestro objetivo fue analizar la funcionalidad de estas variantes alélicas en linfocitos inmortalizados de las pacientes. ATM es una proteína-quinasa activada por daño en el DNA siendo uno de sus sustratos principales p53, el cual aumenta la transcripción de p21, provocando el arresto del ciclo celular. Para evaluar la funcionalidad de ATM, se trataron los linfocitos inmortalizados con Bleomicina, un agente radiomimético que induce quiebres de doble hebra del DNA. Se evaluaron los niveles de p53 y Pser15-p53, mediante Western, la expresión de p21 mediante RT-PCR en tiempo real, y la viabilidad celular en 4 líneas celulares distintas obtenidas de pacientes con las siguientes mutaciones: F582L, D1853NIVS24-9delT, D1853V y c.2082 T>G en el exón 15. Se observa un aumento de la cantidad de P53 y su fosforilación en presencia de Bleomicina. En relación a la viabilidad celular observamos que 3 de las 4 líneas celulares presentan un crecimiento más lento en relación al control. Fondecyt 1040779.

**71. GENERACION Y CARACTERIZACIÓN DE UN RATON TRANSGENICO TEJIDO ESPECIFICO PARA TRPC6.** (GENERATION AND CHARACTERIZATION OF A TRANSGENIC MOUSE TISSUE SPECIFIC FOR TRPC6.) Canales, C<sup>1</sup>., Krall, P<sup>1</sup>., Walz, K<sup>2</sup>., Centro de Estudios Científicos, Universidad Austral de Chile<sup>1</sup>, Centro de estudios Científicos<sup>2</sup>. Patrocinante: Leon, G.

El canal TRPC6 (Transient receptor potential channel 6) pertenece a la familia de canales TRPC y corresponde a una proteína con 6 dominios transmembrana, activado por Di-acilglicerol (DAG) que se relaciona con el transporte de calcio hacia el citoplasma. Este canal es prácticamente ubicuo en distintos órganos y tejidos tanto en humano como en ratón, presentando una homología del 87% y 93%, a nivel de cDNA y aminoácido, respectivamente. Recientemente se han descrito mutaciones en TRPC6, asociadas a una patología renal llamada Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria (FSGS) familiar de herencia autosómica dominante. Este trabajo tuvo por objetivo la creación de un ratón transgénico que sobreexpresara la forma silvestre del canal Trpc6 en los podocitos y su posterior caracterización fenotípica. Para su desarrollo se construyó el cDNA de Trpc6 conteniendo la secuencia codificante para el epítopo de hemaglutinina (HA). Este constructo fue subclonado en un vector de expresión, río abajo del promotor de podocina humano pNPHS2. Tras corroborar su expresión in vitro, peso molecular de la proteína resultante y localización subcelular, la construcción fue microinyectada para generar ratones transgénicos. Tres líneas de transgénicos fueron analizadas para corroborar tanto el número de copias integradas y evaluar la expresión del mensajero, así como la presentación fenotípica de cada una de las líneas. La caracterización fenotípica preliminar, muestra un aumento en los niveles de proteinuria y una morfología anormal de los riñones en los ratones transgénicos, vinculada a una patología renal derivada de la sobreexpresión de Trpc6 en los podocitos.

**70. GENERACION Y CARACTERIZACION DE MUTANTES PUNTUALES DE RAI1 ASOCIADAS AL SINDROME SMITH-MAGENIS.** (GENERATION AND CHARACTERIZATION OF RAI1 POINT MUTATIONS ASSOCIATED TO SMITH-MAGENIS SYNDROME.) Carmona, P<sup>1</sup>., Molina, J<sup>2</sup>., Canales, C<sup>1</sup>., Young, J<sup>2</sup>., Walz, K<sup>2</sup>., Centro de Estudios Científicos CECS, Valdivia. Universidad Austral de Chile, Valdivia<sup>1</sup>, Centro de Estudios Científicos CECS, Valdivia<sup>2</sup>. Patrocinante: Leon, G.

El síndrome Smith-Magenis (SMS) tiene una incidencia aproximada de 125.000 nacimientos y su presentación clínica incluye anomalías craneo-faciales, obesidad, trastornos del comportamiento, del sueño y retraso mental. Este síndrome es producido por la delección de un intervalo genómico en el cromosoma 17p11.2 que incluye 23 genes. Recientemente se demostró que mutaciones en el gen retinoic acid induced 1 (RAI1), uno de los 23 genes deletados, están asociadas con la mayoría de las características patológicas antes mencionadas, señalando a RAI1 como el gen responsable de gran parte de la enfermedad. Aunque la función exacta de la proteína es desconocida, RAI1 podría formar parte de la maquinaria de transcripción y estaría involucrada en el desarrollo del sistema nervioso. Con el objetivo de determinar los mecanismos moleculares afectados en el síndrome, se obtuvo el cDNA humano de RAI1, el cual fue analizado in vitro por primera vez. Se generaron, dos mutaciones puntuales descritas en pacientes con SMS, mediante mutagénesis sitio dirigida, en el cDNA de RAI1 humano y murino. Su localización subcelular y su peso molecular fueron verificadas, además se midió la actividad transcripcional de las proteínas silvestres y mutantes, no encontrándose diferencia entre las proteínas murinas en las características analizadas. Financiamiento: FONDECYT N°1061067.

**72. 4,4-DIMETIL-5,8-DIHIROXINAFTALENO-1-ONA (DHN) Y 9,10-DIHIROXI-4,4-DIMETIL-5,8-DIHIRO-1(4H)-ANTRACENO (DHA) DISMINUYEN LA VIABILIDAD DE CÉLULAS TUMORALES** (4,4-dimethyl-5-8-dihydroxynaphthaleno-1-one (DHN) and 9,10-dihydroxy-4,4-dimethyl-5,8-dihydro-1(4h)-anthracene (DHA) decrease tumor cell viability) Pavani, M<sup>1</sup>., Simon, J<sup>2</sup>., Araya, R<sup>3</sup>., Ferreira, J<sup>1</sup>., Montoya, M<sup>2</sup>., Miranda, D<sup>2</sup>., Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina. Universidad de Chile<sup>1</sup>, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile<sup>2</sup>, Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile<sup>3</sup>.

Se estudió el potencial antineoplásico de: 4,4-dimetil-5-8-dihidroxi-naftaleno-1-ona (DHN) y 9,10-dihidroxi-4,4-dimetil-5,8-dihidro-1(4H)-antraceno (DHA). Ambos compuestos disminuyen la viabilidad de las células tumorales humanas U937 y K562, (IC50 72 horas: 7,96 uM (DHA) y 40,39 uM (DHN) en U937 y de 0,68 uM (DHA) y 32,10 uM (DHN) en K562). Sin embargo, células mononucleares de siñgre periférica humana incubadas con 100 uM de ambos compuestos, exhiben una viabilidad mayor al 80%. Estudios con rodamina 123 y JC-1 mostraron despolarización de la membrana mitocondrial, siendo mayor el efecto inducido por DHA. Medición de la actividad de la cadena transportadora de electrones, mediante el consumo de O<sub>2</sub>, mostró que serían inhibidores del complejo I. Por otro lado, ninguno de los compuestos indujo generación de ROS. Tampoco se observó cambios en la acción de ambos compuestos en presencia de ciclosporina, inhibidor del poro de transición mitocondrial (PTP). Nuestros resultados indican que DHA y DHN tienen efectos antitumorales, siendo mayor el efecto de DHA y su mecanismo de acción estaría radicado en la mitocondria, descartándose la generación de ROS y probablemente la apertura del PTP. Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1071077 (R.A.).

**73. EL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS HENT2 ES EL RESPONSABLE DE LA RESPUESTA TRANSCRIPTÓMICA A LA FLUDARABINA EN PACIENTES LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA** (hENT2 is responsible for the transcriptomic response to fludarabine in CLL patients) **Trigueros, L<sup>1</sup>, Lopez, M<sup>2</sup>, Molina-Arcas, M<sup>1</sup>, Casado, F<sup>1</sup>, Colomer, D<sup>2</sup>, Pastor-Anglada, M<sup>1</sup>.** Grupo Regulación de Sistemas de Transporte. Departamento Bioquímica y Biología Molecular. Universitat de Barcelona<sup>1</sup>, Unitat d'Hematopatologia, Hospital Clínic, IDIBAPS. Barcelona<sup>2</sup>. **Patrocinante: Lopez-Lastra, M.**

La Leucemia Linfática Crónica (LLC) es tratada frecuentemente con el análogo de purina fludarabina, sin embargo, los pacientes responden de forma diferente a su tratamiento. Diversos estudios han demostrado la importancia del transporte en la sensibilidad a análogos de nucleósidos. De hecho, la acumulación de fludarabina en células de LLC es mediada por los transportadores de nucleósidos equilibrativos y es hENT2 el que tiene un papel más significativo en su captación y en su efecto citotóxico. El objetivo de este estudio fue determinar las dianas celulares de la fludarabina, establecer el papel de los transportadores equilibrativos en LLC y buscar nuevos genes que puedan predecir la respuesta a fludarabina. Para ello, se realizó un estudio farmacogenómico mediante microchips de ADN con células de 4 pacientes de LLC con diferentes sensibilidades a la fludarabina. Los resultados obtenidos fueron validados mediante Low Density Arrays en un mayor número de pacientes. La mayoría de genes inducidos por la acción de la fludarabina están relacionados con reparación de ADN, apoptosis y ciclo celular y la mayoría son dependientes de p53. Además, el nivel de inducción de estos genes para cada paciente correlaciona con su respuesta a la fludarabina. Por otro lado, la adición de un inhibidor del transportador hENT1 no bloquea la respuesta transcripcional de la fludarabina, lo que corrobora la importancia de hENT2 en la sensibilidad a la fludarabina en LLC. En resumen, la respuesta transcripcional a la fludarabina en LLC es mediada por p53 y dependiente de la actividad del transportador hENT2.

**75. DISMINUCIÓN DE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS TUMORALES POR ACCIÓN DE NITROSO ARIL DIHIDROPYRIDINAS** (Nitroso aril dihydropyridine derivatives decrease tumor cell viability) **Montoya, M<sup>1</sup>, Almarcegui, R<sup>1</sup>, Simon, J<sup>1</sup>, Nunez, L<sup>2</sup>, Squella, A<sup>3</sup>, Puente, J<sup>1</sup>, Miranda, D<sup>1</sup>.** Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile<sup>1</sup>, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile<sup>2</sup>, Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile<sup>3</sup>.

Se estudió el potencial antineoplásico de tres derivados de nitroso aril dihidropiridinas. Los compuestos disminuyen la viabilidad de las células tumorales humanas U937 y K562, con valores de IC50 a las 72 h que variaron entre 4-19  $\mu$ M. Por otro lado, células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) resultaron más resistentes a la acción de estos compuestos (IC50 a las 72 h entre 43-63  $\mu$ M). Estudios con DCFH-DA mostraron que los nitrosocompuestos aumentaron los niveles de ROS en células tumorales, significativamente mayores que en células PBMC. Mediciones realizadas con MitoSOXRed, indicarían que la formación de ROS comenzaría con la generación de superóxido en la mitocondria. Por otro lado, preincubación de las células con el atrapador de radicales libres N-acetylcisteína, mostró protección a la muerte celular inducida por los nitrosocompuestos. Nuestros resultados indican que los nitrosocompuestos tienen potencial efecto antitumoral, el que estaría mediado por la generación de ROS.

**74. EXPOSICIÓN AGUDA A OXLDL INDUCE UN AUMENTO DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXIGENO Y DISMINUCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN CÉLULAS ENDOTELIALES DE VENA UMBILICAL (HUVECS).** (acute exposition to oxLDL induces an increase of reactive oxygen species and nitric oxide diminution in human umbilical vein endothelial cells (huvecs).) **Salomon, C<sup>1</sup>, Aguayo, C<sup>2</sup>, Zuñiga, F<sup>1</sup>, Rivas, C<sup>1</sup>, Vera, J<sup>1</sup>, Lamperti, L<sup>2</sup>.** Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.<sup>1</sup>, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción<sup>2</sup>.

La aterosclerosis se ha asociado con disfunción endotelial y elevados niveles de lipoproteínas de baja densidad oxidada (oxLDL). En respuesta a exposición prolongada a oxLDL, el endotelio disminuye la síntesis de óxido nítrico (NO), aumenta la expresión de moléculas de adhesión, incrementa las especies reactivas del oxígeno (ROS), secreta sustancias quimiotácticas y factores de crecimiento. Los efectos de oxLDL son dependientes del grado de oxidación de la LDL y del tiempo de exposición en ensayos in vitro sobre cultivos celulares. El objetivo de este trabajo fue medir el efecto agudo de LDL oxidada in vitro en presencia de iones cobre sobre la producción de NO y ROS en células endoteliales de vena umbilical (HUVECs). La obtención de oxLDL se realizó incubando LDL en presencia de CuSO<sub>4</sub> y el grado de oxidación se determinó por la cinética de formación de dienos conjugados. La producción de NO y ROS se midió por ensayos de fluorescencia utilizando como sondas DAF y DCF, respectivamente. Nuestros resultados indican que una corta exposición de células HUVECs a oxLDL produce una disminución de la producción NO, asociada a una disminución en el transporte de L-arginina y a un aumento de especies reactivas del oxígeno.

**76. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA PROTEÍNA HSP70 EN RESPUESTA AL ESTRÉS TÉRMICO Y A LA ESTIMULACIÓN CON VIBRIO EN OSTIONES.** (Molecular characterization of the HSP70 protein in response to heat-shock and Vibrio challenge in scallops.) **Gonzalez, M<sup>1</sup>, Pena, A<sup>2</sup>, Mercado, L<sup>2</sup>, Guzman, F<sup>2</sup>, Arenas, G<sup>2</sup>, Marshall, S<sup>2</sup>.** Departamento Científico. Instituto Antártico Chileno. Punta Arenas<sup>1</sup>, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular. Instituto de Biología. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.<sup>2</sup>

El sistema inmunitario de moluscos es capaz de reconocer y responder de manera rápida a la agresión causada por un agente patógeno, lesión tisular o condición de estrés. En este contexto los hemocitos son células clave que participan en esta estrategia de defensa. Recientemente se ha comenzado a estudiar el rol de las proteínas de estrés térmico (HSP) en la respuesta inmunitaria tanto en modelos invertebrados como vertebrados. A partir del ARN de hemocitos del ostión del Norte (*Argopecten purpuratus*) y utilizando una estrategia de PCR se logró obtener la secuencia completa del gen que codifica para una proteína de tipo HSP70. En ostiones estimulados por bacterias de tipo *Vibrio* se analizó la expresión del gen por PCR en tiempo real observándose una elevación de su expresión después de 24 horas. Así mismo se confirmó el aumento de la transcripción de la hsp70 después de someter a los ostiones a un estrés térmico de 28 grados Celsius. Para la producción de anticuerpos se sintetizaron químicamente por F-moc dos péptidos que presentan un elevado grado de conservación correspondientes a la región C-Terminal. Gallinas ponedoras ISA Brown, fueron inmunizadas los días 0, 10 y 20, con el antígeno en presencia de adyuvante completo/incompleto de Freund. El día 30 se purificó parcialmente IgY desde la yema de los huevos, y se determinó inmunoreactividad positiva. Actualmente nuestros esfuerzos están centrados en la inmuno localización de la proteína a nivel de los hemocitos y en diferentes tejidos del ostión. Financiamiento: Proyecto PBCT PSD-08.

**77. EFECTO DE HEMOCIANINA EN LA MADURACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS.** (Effect of hemocyanin on the maturation of dendritic cells) del Campo, M<sup>1</sup>., Lagos, L<sup>1</sup>., Manubens, A<sup>1</sup>., De Ioannes, A<sup>1</sup>., Moltedo, B<sup>2</sup>., Becker, M<sup>2</sup>.. Departamento de Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A.<sup>1</sup>, Fundación Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Santiago, Chile<sup>2</sup>.

Las hemocianinas son glicoproteínas transportadoras de oxígeno presentes en algunos moluscos y artrópodos. Son conocidas por su extrema inmunogenicidad en mamíferos, siendo utilizadas como proteínas transportadoras de haptenos, en vacunas y como inmunoestimulante de algunos cánceres. Para estas aplicaciones la hemocianina más utilizada proviene de *M. crenulata* (KLH). Hemos demostrado que la hemocianina de *Concholepas concholepas* (CCH), si bien difiere de KLH en su origen y estructura, posee cualidades inmunomoduladoras equivalentes, incrementando la actividad de células NK, e induciendo respuestas inmunes Th1. Se estudió el efecto de CCH sobre células dendríticas (DCs), consideradas las presentadoras de antígeno por excelencia, y por tanto, las moduladoras de la respuesta inmune. Postulamos que CCH induce la maduración de DCs, activando la inmunidad innata y adaptativa, vía presentación de CCH a células T, generando un ambiente de interleuquinas inmunoestimulante. Se demostró incorporación de CCH en DCs generadas desde médula de ratón, por técnicas microscópicas y de citometría, encontrándose una rápida incorporación de CCH en vesículas con clatrina, localizándose posteriormente en lisosomas secundarios. El efecto de CCH sobre la maduración de DCs se analizó mediante la expresión de MHCII, Lamp y moléculas coestimuladoras, no encontrándose efecto hasta las 72 hrs, al comparar con LPS. Sin embargo, cuando las DCs fueron co-cultivadas con células NK, se observó a las 48 hrs, un aumento en la expresión de MHCII y en la secreción de IL12, dependientes de CCH y del contacto entre las células, confirmando una modulación positiva de CCH en la interacción NK-DC. Financiamiento: Fondecyt 1050150..

**78. LISOFOSFATIDILCOLINA, UNA NUEVA MODALIDAD PARA LA SUPLEMENTACION PERINATAL CON ACIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA). ANALISIS DE PARAMETROS BIOQUIMICOS Y DE APRENDIZAJE EN UN MODELO ANIMAL.** (Lysophosphatidylcholine, a new approach for perinatal supplementation of docosahexaenoic acid (DHA). Analysis of biochemical and learning parameters in an animal model) Valenzuela, A<sup>1</sup>., Nieto, S<sup>1</sup>., Sanhueza, J<sup>1</sup>., Zanartu, P<sup>2</sup>.. INTA, Universidad de Chile<sup>1</sup>, Esc. Psicología, Universidad de los Andes<sup>2</sup>.

El DHA es considerado un ácido graso omega-3 esencial para el desarrollo y la funcionalidad del sistema nervioso, por lo cual se recomienda la suplementación perinatal. Existen diferentes modalidades de suplementación, sin certeza sobre la biodisponibilidad de ellas. A partir de fosfatidilcolina obtenida de huevos enriquecidos con DHA se obtuvo DHA-lisofosfatidilcolina (DHA-LFC) por método enzimático, la que se utilizó para suplementar ratas wistar hembras 45 días antes del inicio de la preñez y durante esta. Se comparó con el efecto de la suplementación de un monoglicérido rico en DHA obtenido de aceite de salmón (DHA-MG). Como control, se utilizó un monoglicérido de ácido oleico (O-MG). Se evaluó el contenido de DHA en diferentes tejidos de las madres y en diferentes segmentos cerebrales de las crías; se evaluó el contenido de colina plasmática de las crías, la concentración de acetilcolina, y la actividad de la enzima acetilcolina transferasa (CAT) en segmentos cerebrales de las crías. Además, se aplicó el test de condicionamiento operante y aprendizaje de Skinner a las crías. Resultados: La suplementación con DHA-LFC, aumenta los niveles de colina plasmáticos en las madres, y los niveles de acetilcolina en los segmentos cerebrales de las crías, sin modificar la actividad de CAT. Además, las crías suplementadas con DHA-LFC presentan un patrón de aprendizaje y memorización superior que los animales suplementados con DHA-MG y O-MG. Se discute sobre la potencialidad de DHA-LFC como un suplemento efectivo para aportar DHA en la etapa perinatal. Financiado por FONDECYT 1050515.

# INDICE GENERAL

PAG

## Programa

- Conferencias
- Simpósios
- Incorporaciones
- C. Libres orales
- C. Libres paneles

## Autores

Aceituno, F.....	10-33
Acevedo, M.....	8-30
Acuna, .....	L57
Aguayo, C.....	63
Aguillón, J.....	11-25
Aguillo, L.....	15-26
Alarcon, R.....	55
Albornoz, A.....	45-46
Alioua, A.....	13-36
Alló, M.....	6-20
Almada, R.....	50
Almarcegui, R.....	63
Alonso, R.....	10-34
Alvarado, E.....	60
Alvarez, C.....	17-43
Alvarez, J.....	12-36
Alvarez, K.....	17-42
Alvarez, M.....	10-17-34-43
Álvarez, J.....	6-23-54
Ananthanarayanan, M.....	54
Andricopulo, A.....	20
Aquea, F.....	7-28
Araus, V.....	50
Araya, A.....	10-34
Araya, J.....	60
Araya, R.....	62
Arce-Johnson, P.....	7-10-28-34-50
Arenas, F.....	13-15-26-37
Arenas, G.....	63
Arrese, M.....	54
Asenjo, J.....	8-30
Astorga, G.....	9-32
Ávila, M.....	54
Aylwin, C.....	8-9-15-31-32-40-46
Babul, J.....	9-32
Baez, M.....	9-32
Balliano, T.....	20
Bar-Magen, T.....	48
Barra, V.....	12-17-35-43
Barriga, F.....	62
Barría-Cárcamo, M.....	14-39-48
Becker, M.....	13-17-36-42-49-64
Blanco, F.....	10-34-51
Brauchi, S.....	9-31
Brito, J.....	61
Bronfman, F.....	48
Bronfman, M.....	54
Brown, G.....	9-31

Bruna, C.....	12-35
Brunet, J.....	7-28
Bugueño, D.....	60
Bull, P.....	12-36
Bunster, M.....	8-16-30-40-41-48
Cabrera, R.....	45
Calderon, I.....	15-26
Caligari, P.....	53-54
Camara, B.....	15-26
Campillo Álvarez, J.....	6-23
Canales, C.....	62
Canessa, P.....	12-36-54
Caniuguir, A.....	9-31
Cardemil, E.....	46-47-49
Carmona, P.....	62
Caroca, R.....	52
Carrasco, P.....	53
Carvacho, I.....	16-40
Carvajal, N.....	16-40-41
Carvalho, P.....	17-42-43-61-62
Casado, F.....	63
Casanello, P.....	6-12-28-36
Casaretto, J.....	51
Castellanos, J.....	12-16-35-41
Castilho, M.....	20
Castillo, A.....	60
Castillo, D.....	46
Castillo, E.....	61
Castillo, M.....	13-38-57
Castro, D.....	13-38
Castro, D.....	57-58
Castro, M.....	14-15-26-39
Cañon, P.....	50
Cechinni, N.....	10-34
Chaudhuri, J.....	11-25
Chavez, R.....	7-28-56-59
Chilian, J.....	9-33
Cifuentes, J.....	48
Claverol, S.....	9-32
Colomer, D.....	63
Contreras, F.....	17-42
Cornejo, P.....	57
Correa, A.....	20
Corsini, G.....	57
Corvalán, A.....	17-43
Corvalán, C.....	51
Covarrubias, P.....	13-37
Cruzat, F.....	55
Cuchacovich, M.....	11-25
Cárdenas, F.....	56
De Ioannes, A.....	13-36
De Ioannes, A.....	17-42-49-64
De Ioannes, P.....	13-36
de Armas, M.....	8-30
de la Mata, M.....	6-20
del Campo, M.....	17-42-64
De la Fuente, M.....	17-42
Di Génova, A.....	47
Echague, A.....	16-41
Elizabeth, E.....	8-31
Encina, G.....	17-43
Enriquez, S.....	16-41

Escobar, C.....	49
Escobar, E.....	46
Espinosa, Y.....	59
Eyzaguirre, J.....	7-28-49-56-59
Farias, M.....	6-28
Faundez, P.....	62
Faunes, F.....	12-35
Fededa, J.....	6-20
Federici, F.....	10-34
Fernandes, J.....	10-20
Fernández, V.....	57
Ferrada, E.....	16-41-47
Ferreira, J.....	62
Ferreira, J.....	49
Ferreira, S.....	14-21
Ferres, M.....	58
Fierro, F.....	7-28
Figueroa, C.....	53
Figueroa, J.....	13-36
Figueroa, M.....	13-37-56
Flores, C.....	50
Fritz, M.....	49
Fuentes, P.....	50-59
Fuentes, A.....	13-36
Fuentes, D.....	15-26-52-53
Fuentes, I.....	51
Fuentes, J.....	13-38-48-57-58
Fuentes, L.....	56
Fuentes, P.....	50-59
Gaete-Eastman, C.....	53
Galanti, N.....	58
Garces, M.....	9-32
García, V.....	14-38
García-Rico, R.....	7-28
García, D.....	16-41
Garratt, R.....	20
Gatica, M.....	45-46
Godoy, P.....	58
Gomez, I.....	52
Gonzalez, X.....	59
Gonzalez, A.....	48
Gonzalez, F.....	17-42
Gonzalez, M.....	55-63
Gonzalez, X.....	60
Gonzalez-Nilo, D.....	47
González-Nilo, F.....	16-40
González, A.....	49
González, B.....	14-38
González, C.....	47-56
González, E.....	9-33
González, F.....	47
González, J.....	60-61
González, M.....	61
González, W.....	16-40
González-Martínez, G.....	17-43
González-Nilo, F.....	47-48
González-Villanueva, E.....	50
Grossniklaus, U.....	7-28

Guido, R.....	20	Lagos, L.....	42-64	Miranda, D.....	62-63
Guixé, V.....	9-31	Lagos, R.....	7-14-28-38	Miranda, J.....	52
Gutiérrez, J.....	7-24	Lalanne, C.....	9-32	Molina, J.....	62
Gutiérrez, R.....	9-10-33	Lamperti, L.....	63	Molina, R.....	14-39
Gutiérrez, S.....	55	Lara, P.....	56	Molina-Arcas, M.....	63
Gutiérrez Ilabaca, R.....	53	Larrain, J.....	12-35	Molledo, B.....	17-42
Gutiérrez, C.....	8-20	Latorre, R.....	9-13-16-31-36-40	Molledo, B.....	64
Gutiérrez, R.....	50-51	Latorre, V.....	15-26	Monasterio, O.....	7-14-28-38
Gutiérrez, S.....	12-35-54	Lavadero, B.....	54	Montecino, M.....	7-12-13-24-35-37-55-56
Gutiérrez, T.....	16-41	Le Provost, G.....	9-32	Montecinos, F.....	7-28
Guzman, F.....	63	Lee, M.....	11-25	Montoya, M.....	62-63
Guzmán, P.....	12-35	Levicán, G.....	8-30	Mora, G.....	13-38-57-58
Gómez, I.....	10-34-52	León, U.....	14-39	Morera, F.....	13-36
Haensgen, H.....	8-9-31-32-46	León, O.....	8-30	Moya, M.....	9-32-53
Handford, M.....	52	León, U.....	14-39-58	Moya-Leon, A.....	53
Hausmann, D.....	13-36	Lobos-González, L.....	17-43	Moya-León, M.....	9-32
Hechenleitner, M.....	12-35	Lopez, M.....	63	Munoz, P.....	59
Henriquez, B.....	55	Lopez-Goni, I.....	14-39	Munroe, D.....	17-43
Hepp, M.....	55	Lopez-K, F.....	17-42	Muñoz, A.....	8-31-45
Herrada, A.....	17-42	Ludwig, H.....	8-30	Muñoz, C.....	46
Herrera, R.....	32	López, C.....	56	Muñoz, M.....	6-20
Herrera, A.....	46	López, V.....	61	Naulin Gysling, P.....	53
Herrera, L.....	61	López-Lastra, M.....	6-12-13-14-28-36 37-39-48-58-59	Navarrete, K.....	56-59
Herrera, R.....	9-32-53-54	Maldonado, M.....	12-35	Navarro, C.....	48
Hevia, M.....	17-42	Mancilla, M.....	14-39	Navarro, C.....	15-26-34
Hinojosa, M.....	12-35	Mancilla, R.....	48-54	Neira, I.....	60-61
Hinrichs, M.....	13-37-56	Manubens, A.....	13-17-36-42-64	Niemeyer, M.....	47
Holmgren, M.....	47	Marcellini, S.....	12-35	Nieto, S.....	64
Holuigue, L.....	51-52	Mardones, L.....	46	Nilo, R.....	49
Holuigue, M.....	10-34	Marsac, D.....	39	Norambuena, T.....	16-41
Huaquin, L.....	13-36	Marshall, S.....	55-58-63	Nova, E.....	7-28-49
Huidobro-Toro, J.....	13-37	Martin, J.....	7-28-59	Nunez, L.....	63
I		Martinez, M.....	12-35	Ojeda, P.....	45-46
bar, C.....	9-33	Martinez, P.....	15-16-26-41	Olate, J.....	12-13-35-37-55-56
Imbalzano, A.....	7-24	Martinez, S.....	13-37	Oliva, G.....	20
Imlay, J.....	15-26	Martinez, M.....	55	Orellana, A.....	9-33-49
Israel, Y.....	17-43-61	Martinez, J.....	13-36	Orellana, M.....	16-40-41
Jabalquinto, A.....	46-49	Martinez, M.....	54	Orellana, O.....	8-30
Jara, M.....	56	Marzolin, M.....	54	Orellana, P.....	17-42
Jaña, C.....	45	Mascayano, C.....	48-56	Ormazabal, V.....	8-9-15-31-32-40-45-46
Jerez, C.....	14-15-26-38	Matte, J.....	7-28	Ormazabal, V.....	45
Jordana, X.....	10-34-51-52-53	Matus, T.....	10-34	Orrell, A.....	15-26
Kabir, S.....	11-25	Medina, C.....	10-34	Orta, G.....	9-31
Kalergis, A.....	11-17-25-42	Mella, C.....	16-40	Osorio, L.....	60-61
Katz, A.....	8-30	Melo, F.....	12-16-35-41-47	Oyarzo, M.....	17-42
Kornblihtt, A.....	6-20	Melo, L.....	16-41	Oyarzún, I.....	9-31
Koshi, S.....	9-31	Merabachvili, G.....	52	Pacheco, R.....	17-42
Krall, P.....	62	Mercado, L.....	55-63	Pacheco, C.....	8-31-45
Kundu, P.....	13-36	Merino, F.....	9-31-32	Paéz, Y.....	61
Lagos, A.....	15-26			Paiva, J.....	9-32
Lagos, C.....	48				

Panjkovich, A.....	16-41	Rojas, M.....	58-59-60	Tampier, L.....	17-43
Pasten, P.....	13-37-56	Rojas, P.....	54	Tapia, R.....	53
Pastor-Anglada, M.....	63	Rojas, V.....	55	Tapia, T.....	61
Patton, J.....	48	Romo, E.....	61	Thiemann, O.....	20
Pavani, M.....	62	Roschztardt, H.....	10-34-52	Timmermann, T.....	10-34
Pena, A.....	55-63	Rosenmann, E.....	9-31	Tobar, I.....	47
Perez, J.....	13-15-26-37	Rozemblum, E.....	17-43	Tobar, J.....	17-42
Perez, N.....	16-41	Rueda, L.....	16-41	Toro, C.....	45
Perez-Acle, T.....	48	Ruiz, S.....	9-33	Toro, L.....	13-36
Petrillo, E.....	6-20	Ruiz-Lara, S.....	50-51	Torrejon, M.....	56
Pimentel, P.....	53	Saavedra, J.....	57	Trigueros, L.....	63
Pino, K.....	58	Sagua, H.....	60-61	Troncoso, C.....	60
Pizarro, L.....	50	Salas, A.....	8-9-31-32-45-46	Urbina, H.....	16-40-47-48
Plomion, C.....	9-32	Salas, L.....	48	Ureta, T.....	16-41-45
Plomion, C.....	32	Salas-Burgos, A.....	15-40	Uribe, E.....	16-40-41-61
Poblete, F.....	9-33	Salazar Onfray, F.....	11-25	Vaca, I.....	7-28
Ponce, I.....	60	Salazar, M.....	54	Valdes, C.....	56
Poupin, M.....	10-34	Salinas, P.....	10-34-51	Valenzuela B, A.....	6-23
Pradenas, G.....	57	Salomon, C.....	63	Valenzuela, A.....	64
Preller, A.....	16-41	Sanchez, A.....	62	Valenzuela, B.....	8-30
Puebla, C.....	6-12-28-36	Sanchez, L.....	45	Valenzuela, L.....	14-38
Puente, J.....	17-42-63	Sandino, A.....	59	Valenzuela, X.....	45-46
Pulido, R.....	61	Sandoval, C.....	54	Valiente-Echeverria, F.....	58
Pupo, M.....	20	Sandoval, J.....	13-15-26-37-57	Vargas, M.....	45
Pérez, N.....	47	Sanhueza, J.....	64	Vasquez, C.....	13-14-15-26 37-39-57
Pérez, L.....	18-21	Sapag, A.....	17-43-61	Vasquez, M.....	52
Pérez, M.....	60	Schor, I.....	6-20	Vasquez, O.....	8-31-45
Pérez-Pantoja, D.....	14-38	Seeger, M.....	15-26	Veas, F.....	58
Pérez-Santángelo, S.....	6-20	Sepúlveda, F.....	47	Vega, A.....	10
Quintanilla, M.....	17-43	Sepúlveda-Ugarte, J.....	8-30	Venegas, A.....	13-36
Raddatz, N.....	9-31	Silva, M.....	20	Vera, J.....	12-15-17-31-32-35 40-43-45-46-63
Ramdohr, P.....	58-59	Simon, J.....	62-63	Vera-Otarola, J.....	14-39
Ramila, C.....	52	Siques, P.....	61	Vera-Otarola, J.....	14-39
Ramos, P.....	53	Slater, A.....	16-41-47	Verdugo, I.....	9-33
Ramos, B.....	54	Slebe, J.....	8-30	Vergara, A.....	9-33-47
Ramos, P.....	9-32	Sobrevia, L.....	6-12-28-36	Vergara, I.....	12-35
Ramírez, C.....	45	Solis, L.....	56	Vergara, V.....	12-35
Rascován, N.....	6-20	Solis, M.....	17-43	Vicente-Carbajosa, J.....	10-34
Ravanal, M.....	49	Soliz, C.....	12-17-35-43	Vicuna, R.....	12-36
Rebolledo, B.....	12-35	Soto, C.....	14-38	Vicuña, R.....	48-54
Reinoso, C.....	59	Sotomayor, K.....	17-43-45	Vidal, E.....	50
Remonsellez, F.....	15-26	Soza, A.....	14-39	Vidal, M.....	16-40
Retamal, P.....	13-38-57-58	Soza, A.....	14-39-48-58	Videla, L.....	57
Reyes, A.....	45-46	Squella, A.....	63	Vieira, P.....	20
Reyes, C.....	56	Stange, C.....	50	Villagran, M.....	17-43
Rivas, C.....	12-35	Stefani, E.....	13-36	Villagrán, M.....	12-35
Rivas, A.....	13-37	Stefas, E.....	58	Viveros, M.....	46
Rivas, C.....	8-9-15-17-31-32 40-43-45-46-63	Stuardo, M.....	55	Vollrath, V.....	14-39
Roa, A.....	56	Stuardo, M.....	12-35-54	Vollrath, V.....	13-14-37-39-58
Rodriguez, A.....	50	Suazo R, M.....	6-23	Vuong, B.....	11-25
Rodriguez, F.....	13-37	Tamayo, K.....	51	Vásquez, M.....	10-34

Waiz, K.....	62
Wielandt, A.....	17-42
Wilson, C.....	16-41
Wolnitzky, J.....	61
Yakunin, A.....	9-31
Yañez, A.....	8-30
Yañez, J.....	60
Young, J.....	62
Yáñez, M.....	51
Zambrano, A.....	56
Zamorano, P.....	56
Zanartu, P.....	64
Zarraga, A.....	39
Zuniga, F.....	8-9-31-45
Zuñiga, S.....	54
Zuñiga, F.....	8-15-31-32
.....	40-45-46-63
Zúñiga, F.....	12-35-46

