



Dokta Mariu Muñoz
Universidad de Concepción
207

**XXXII
REUNIÓN ANUAL
SOCIEDAD DE BIOQUÍMICA
Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE
CHILE**

22 - 25 de Septiembre de 2009
Termas de Chillán, Chile

XXXII REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE CHILE

22 - 25 de Septiembre de 2009
Termas de Chillán, Chile

Directorio

Presidente	:	Juan Olate A.
Presidente Anterior	:	Xavier Jordana D.
Vice Presidente	:	Victoria Guixé L.
Secretario	:	José Martínez-Oyanedel
Tesorera	:	Soraya Gutiérrez G.
Directores		
Santiago	:	Rodrigo Gutiérrez I.
Talca	:	Simón Ruiz L.
Concepción	:	Marcia Puchi T.
Valdivia	:	Alejandro Reyes

INSTITUCIONES AUSPICIADORAS

Universidad de Talca

Universidad Diego Portales

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción

Vicerrectoría Académica, Universidad de Concepción

Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello

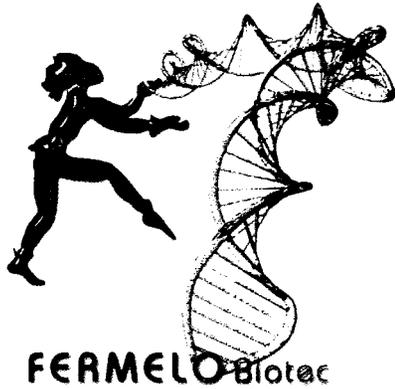
Pan American Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB)

International Union of Chemistry and Molecular Biology (IUBMB)

Núcleo Milenio en Biotecnología Celular Vegetal

Programa Basal Fundación Ciencia para la Vida

EMPRESAS AUSPICIADORAS



PROGRAMA

MARTES 22 DE SEPTIEMBRE

11:00- 14:00 **INSCRIPCIONES**

14:00- 15:00 **ALMUERZO**

Sala C

15:00-16:30 COMUNICACIONES LIBRES I: ENZIMOLOGÍA

Presidente: Alejandro Reyes

Secretario : Elena Uribe

- 15:00 **ANÁLISIS DE DETERMINANTES ESTRUCTURALES DE LA PIRIDOXAL QUINASA HUMANA MEDIANTE ESTUDIOS CINÉTICOS Y BIOINFORMÁTICOS** (Analysis of human pyridoxal kinase structural determinants through kinetic and bioinformatic studies) **Ramírez, C.**¹, Cabrera, R.¹, Guixé, V.¹ Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.
- 15:15 **EFFECTOS DE LA REMOCIÓN DE LA SECUENCIA TIPO LIM EN LA AGMATINASA DE CEREBRO DE RATA** (Effects of removal of a LIM-type sequence from rat brain agmatinase) **Castro, V.H.**¹, Fuentealba, J.P.¹, Benítez, J.R.¹, Carvajal, N.¹, Uribe, E.A.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.
- 15:30 **CONSECUENCIAS ESTRUCTURALES Y CINÉTICAS DEL REEMPLAZO MUTAGÉNICO DE LOS RESIDUOS ASP205 Y GLU256 EN LA ARGINASA HUMANA TIPO I** (Structural and kinetic consequences of mutagenic substitutions of Asp205 and Glu256 in human arginase type I) **Lobos, M.**¹, Uribe, E.A.¹, Carvajal, N.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.
- 15:45 **GONST4, EL PRIMER TRANSPORTADOR DE NUCLEÓTIPO-AZÚCAR DE *Arabidopsis thaliana* CAPAZ DE IMPORTAR GDP-L-FUCOSA Y GDP-L-GALACTOSA** (GONST4, a nucleotide sugar transporter from *Arabidopsis thaliana* transports GDP-L-fucose and GDP-L-galactose) **Miranda, J.P.**¹, Ampuero, D.¹, Huichalaf, M.¹, Handford, M.¹ Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.
- 16:00 **INHIBIDORES DE HISTONAS DESACETILASAS RETARDAN LA GERMINACIÓN EN *Arabidopsis thaliana*** (Deacetylases inhibitors delay seed germination in *Arabidopsis thaliana*) **Obrecht, A.**¹, Paneque, M.¹ Laboratorio de Biotecnología y Bioenergía, Dpto. de Cs. Ambientales y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile¹. Patrocinante: Martínez-Oyanedel, J.

Sala 1

15:00-16:30 COMUNICACIONES LIBRES II: BIOQUÍMICA CELULAR

Presidente: Ilona Concha

Secretario : M^a Victoria Hinrichs

- 15:00 **TRANSPORTADORES DE VITAMINA C Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE GLUTATIÓN EN CÉLULAS DE SERTOLI** (Vitamin C transporters and its relationship with glutathione content in Sertoli cells) **Maldonado, R.**¹, Angulo, C.², Mancilla, H.¹, Pulgar, E.¹, Villarroel, F.¹, Yañez, A.E.¹, Slebe, J.C.¹, Rivas, C.I.³, Vera, J.C.³, Castro, M.A.¹, Concha, I.I.¹ Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile¹. Instituto de Química, Universidad Austral de Chile². Departamento de Fisiopatología, Universidad de Concepción³.
- 15:15 **INSULINA REGULA EL METABOLISMO ENERGÉTICO Y LA DINÁMICA MITOCONDRIAL EN EL CARDIOMIOCITO** (Insulin regulates energetic metabolism and mitochondrial dynamics in cardiac myocytes) **Parra, V.**¹, Morales, C.¹, Bravo, R.¹, Zorzano, A.², Lavadero, S.¹ Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile, Chile¹. Instituto de Investigación Biomédica, Barcelona, España².
- 15:30 **FUNCIÓN DE LA CHAPERONA DE HISTONAS MP62 EN LA REMODELACIÓN DE LA CROMATINA PATERNA POST FECUNDACIÓN EN ERIZOS DE MAR** (Function of the histone chaperone MP62 in male chromatin remodeling post fecundation in sea urchins) **Iribarren, C.**¹, Morin, V.¹, Genevieve, A.², Puchi, M.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹. Laboratoire Arago, Université Pierre et Marie Curie, Paris, Francia².
- 15:45 **PARTICIPACIÓN DE TonEBP EN LA MUERTE DEL CARDIOMIOCITO INDUCIDA POR ESTRÉS HIPEROSMÓTICO** (Participation of TonEBP in cardiomyocyte death induced by hyperosmotic stress) **Chiong, M.**¹, Navarro, P.¹, Ocaranza, M.P.², Jalil, J.², Kwon, H.M.³, Lavadero, S.¹ Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile¹. Facultad Medicina, P. Universidad Católica de Chile². Department of Medicine, University of Maryland, USA³.
- 16:00 **LOCALIZACIÓN INTRACELULAR DE LAS ISOFORMAS RIC-8A Y RIC-8B DURANTE LA MITOSIS** (Intracellular localization of RIC-8A and RIC-8B isoforms during mitosis) **Campos, T.**¹, Pastén, P.¹, Beyer, A.¹, Olate, J.¹, Hinrichs, M.V.¹ Laboratorio de Genética Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.
- 16:15 **INHIBICIÓN DE CDK5 PREVIENE RETRACCIÓN NEURÍTICA CAUSADA POR PRODUCTOS SECRETADOS POR LINFOCITOS INFECTADOS POR HTLV-I** (Inhibition of CDK5 prevents neurite retraction caused by secreted products of HTLV-I infected lymphocytes) **Maldonado, H.**¹, Pando, M.E.¹, Ramírez, E.^{2,3}, Kettlun, A.M.¹, Collados, L.¹, Cartier, L.⁴, Valenzuela, M.A.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹. ICBM, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile². ISP³. Departamento de Ciencias Neurológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile⁴.
- 16:30 **hRIC-8A ES TRANSLOCADO DESDE EL CITOSOL A LA MEMBRANA PLASMÁTICA EN RESPUESTA A ISOPROTERENOL, CARBACOL Y SOMATOSTATINA** (hRIC-8A is translocated from the cytosol to the plasma membrane in response to isoproterenol, carbachol and somatostatine) **Pastén, P.**¹, Campos, T.¹, Olate, J.¹, Hinrichs, M.V.¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica¹.

Sala C

17:15-19:00 SIMPOSIO 1: ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA

Coordinador: José Martínez-Oyanedel

- 17:15 **CONTENIDOS CURRICULARES DE LAS CARRERAS DE BIOQUÍMICA EN LAS UNIVERSIDADES CHILENAS** (Curriculum contents in biochemistry careers at Chilean Universities) **Martínez-Oyanedel, J.**¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.
- 17:30 **HAS THE CONTENT IN INTRODUCTORY BIOCHEMISTRY COURSES REACHED A LIMIT?** (¿Han llegado a un límite los contenidos de un Curso Introductorio de Bioquímica?) **Voet, D.**¹ Chemistry Department, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A¹.
- 18:00 **HOW CAN NEW LEARNING TECHNIQUES AND NEW FORMS OF COMPUTERIZED ANCILLARY MATERIALS BE INTEGRATED INTO THE BIOCHEMISTRY CURRICULUM?** (¿Cómo pueden integrarse las nuevas técnicas de aprendizaje y los nuevos materiales informáticos auxiliares, en el Curriculum de los Bioquímicos?) **Voet, J.**¹ Chemistry and Biochemistry Department, Swarthmore College, Swarthmore, PA, USA¹.
- 18:30 **HERRAMIENTAS PARA LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA** (Tools for the Teaching of Biochemistry) **Beltramini, L.M.**^{1,2,3} Centro de Biotecnología Molecular Estructural¹. Instituto Nacional Biotecnología Estructural e Química Medicinal em Doencas Infecciosas². Instituto de Física de Sao Carlos da Universidade de Sao Paulo, Brasil³.
- 19:00-19:30 **CAFÉ**

Sala C

19:30-19:40 BIENVENIDA DEL PRESIDENTE

19:40-20:45 CONFERENCIA INAUGURAL

Presenta: Marcelo López Lastra

CONTROL TRADUCCIONAL POR miRNAs Y PROTEÍNAS DE UNIÓN A RNA (Translational control by miRNAs and RNA-binding proteins) **Hentze, M.W.**¹. European Molecular Biology Laboratory, Meyerhofstrasse 1, D-69117 Heidelberg, Germany¹.

20:45 **CÓCTEL INAUGURAL**

21:30 **CENA**

MIÉRCOLES 23 DE SEPTIEMBRE

Sala C

09:00-11:00 COMUNICACIONES LIBRES III: BIOQUÍMICA DE PLANTAS

Presidente: Rodrigo Gutiérrez

Secretario : Gabriel León

- 09:00 **EL MÓDULO REGULADORIO miR393:AFB3 CONTROLA LA ARQUITECTURA DE LA RAÍZ EN RESPUESTA A NITRATO EN *Arabidopsis thaliana*.** (The novel nitrate responsive miR393: *AFB3* regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana*) **Vidal, E.A.**¹, Arous, V.¹, Lu, C.², Green, P.J.², Coruzzi, G.M.³, Gutiérrez, R.A.^{1,3} Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Department of Plant and Soil Sciences, Delaware Biotechnology Institute, University of Delaware². Department of Biology, New York University³.
- 09:15 **ESTUDIOS SOBRE LA FUNCIÓN Y EXPRESIÓN DE UNA SUBUNIDAD ESPECÍFICA DE EMBRIOGÉNESIS DEL COMPLEJO II MITOCONDRIAL DE *Arabidopsis thaliana*** (Studies on the function and expression of an embryo specific subunit of *Arabidopsis thaliana* mitochondrial Complex II) **Restovic, F.**¹, Roschztardt, H.¹, Vásquez, M.¹, Corbalán, C.¹, Gómez, M.I.¹, Jordana, X.¹ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.
- 09:30 **LLP, UNA LECTINA DE ARABIDOPSIS INDUCIDA POR ÁCIDO SALICÍLICO, INVOLUCRADA EN LA RESPUESTA DE DEFENSA CONTRA *Pseudomonas syringae*** (LLP, an Arabidopsis lectin-induced by Salicylic acid, is involved in the defense response against *Pseudomonas syringae*) **Armijo, G.**¹, Salinas, P.¹, Leiva, D.¹, Holuigue, L.¹ Laboratorio Biología Molecular Vegetal, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹.
- 09:45 **OBTENCIÓN DE TOMATES QUE EXPRESAN UN mRNA DE UN EPITOPE DE UNA PROTEÍNA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C** (Obtaining tomatoes expressing an epitope of an mRNA of a protein of Hepatitis C Virus) **Jauregui, F.**¹, Arce-Johnson, P.¹ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.
- 10:00 **DESARROLLO DE NUEVOS PROMOTORES GENÉTICOS DE LEVADURA PARA USO EN INGENIERÍA METABÓLICA** (New yeast genetic promoters to use in metabolic engineering) **Vargas, F.**¹, Stephanopoulos, G.², Agosin, E.¹ Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Bioinformatics & Metabolic Engineering Laboratory⁴, Department of Chemical Engineering¹, Massachusetts Institute of Technology².
- 10:15 **IDENTIFICACIÓN DIRIGIDA DE GENES REQUERIDOS PARA EL DESARROLLO Y FUNCIÓN DEL POLEN EN *Arabidopsis thaliana*** (Targeted identification of genes required for pollen development and function in *Arabidopsis thaliana*) **Kaiser, M.**¹, León, G.¹ Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello¹.
- 10:30 **IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PLANTAS MUTANTES EN ACA7, UN GEN QUE CODIFICA PARA UNA Ca²⁺-ATPasa AUTORREGULADA POR CALMODULINA Y QUE ES REQUERIDO PARA EL DESARROLLO DEL POLEN EN *Arabidopsis thaliana*** (Identification and characterization of ACA7, a gene encoding a calmodulin autoregulated Ca²⁺-ATPase required for pollen development in *Arabidopsis thaliana*) **Lucca, N.**¹, León, G.¹ Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello¹.
- 10:45 **PLANTAS DE ARABIDOPSIS DEFICIENTES EN EL COMPLEJO II MITOCONDRIAL PRESENTAN UNA ALTERACIÓN EN LA FUNCIÓN ESTOMÁTICA** (Arabidopsis plants impaired in mitochondrial complex II present an alteration of stomatal function) **Fuentes, D.**¹, Nunes-Nesi, A.², Araujo, W.², Gómez, M.I.¹, Fernie, A.², Jordana, X.¹ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Max Planck Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Alemania².

Sala 1

09:00-11:00 COMUNICACIONES LIBRES IV: BIOMEDICINA-VIROLOGÍA-MICROBIOLOGÍA

Presidente: Soraya Gutiérrez

Secretario : M^a Antonieta Valenzuela

- 09:00 **HIPERMETILACIÓN DE LOS PROMOTORES DE LOS GENES RASSF1 Y P16 EN TUMORES DE MAMA HEREDITARIO** (Hypermethylation of RASSF1 and p16 promoters in hereditary breast tumors) **Tapia, T.¹**, Alvarez, C.¹, Castillo, E.¹, Faundez, P.¹, Camus, M.², Alvarez, M.², Carvallo, P.¹ Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile².
- 09:15 **CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN Y/O ACTIVACIÓN DE MOLÉCULAS RELACIONADAS CON LA VÍA METABÓLICA DE LA INSULINA EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP)** (Analysis of changes in the expression and/or activity of molecules linked to insulin-signaling pathways in endometrial tissue samples from Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) women) **Ormazabal, P.¹**, Fornes, R.¹, Rosas, C.¹, Gabler, F.², Vantman, D.³, Romero, C.³, Quest, A.F.⁴, Vega, M.¹ Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva-HCUCH¹. Dpto. Anatomía-Patológica, Facultad de Medicina². Dpto. Obstetricia/Ginecología-HCUCH³. Laboratorio de Comunicaciones Celulares, FONDAPE-CEMC, Facultad de Medicina-UCH⁴. Patrocinante: Lavandero, S.
- 09:30 **ANÁLISIS GENÉTICO DEL GEN *MSH6* EN FAMILIAS CON CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO NO POLIPOSO** (Genetic Analysis of *MSH6* gene in families with Hereditary Non Poliposis Colorectal Cancer) **Orellana, P.^{1,2}**, Alvarez, K.^{1,2}, Garmendia, A.³, Contreras, L.³, Church, J.⁴, López-Kostner, F.¹, Carvallo, P.² Laboratorio de Oncología y Genética Molecular, Clínica las Condes¹. Laboratorio de Genética Molecular Humana, Pontificia Universidad Católica de Chile². Departamento de Anatomía Patológica, Clínica Las Condes³. The Cleveland Clinic Foundation, Ohio, USA⁴.
- 09:45 **IDENTIFICACIÓN DE ALTERACIONES GENÓMICAS EN CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO: ANÁLISIS POR MICROARREGLOS DE DNA** (Identification of genomic aberrations in hereditary breast cancer: a DNA microarray analysis) **Alvarez, C.¹**, Solís, L.M.², Corvalán, A.², Alvarez, M.², Camus, M.², Rozenblum, E.³, Munroe, D.³, Carvallo, P.¹ Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile². Laboratory of Molecular Technology, SAIC-Frederick Inc., NCI, National Institutes of Health, Frederick, MD, USA³.
- 10:00 **BÚSQUEDA DE MARCADORES BIOQUÍMICOS SISTÉMICOS Y TISULARES EN PACIENTES CON FIBRILACIÓN AURICULAR POST-OPERATORIA** (Systemic and tisular biomarkers in patients with post-operative atrial fibrillation) **García, L.¹**, Verdejo, H.², Solís, M.¹, García, A.¹, Becerra, E.¹, Navarro, M.¹, Zully, P.¹, Roldán, J.¹, Corbalán, R.², Lavandero, S.¹ Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹. Facultad de Medicina, Universidad Católica de Chile².
- 10:15 **ELEMENTOS *cis*-PRESENTES EN EL mRNA DE HIV-1 REGULAN LA ACTIVIDAD DEL IRES VIRAL** (*cis*-elements in the HIV-1 genome modulate viral IRES activity) **Valiente-Echeverría, F.¹**, Rivero, M.¹, Vallejos, M.¹, Pino, K.¹, Rodríguez, F.², García-Huidobro, J.P.², Lopez-Lastra, M.¹ Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, PUC¹. Departamento de Fisiología, Centro de Regulación Celular y Patología J.V. Luco, Instituto MIFAB, PUC².

- 10:30 **TRADUCCIÓN DEL mRNA DEL SEGMENTOS DEL VIRUS ANDES Y BUNYAMWERA: ROL DEL CONTEXTO AUG Y LAS PROTEÍNAS N Y Nss** (Translation of S segment mRNA from Andes and Bunyamwera Virus: Role of the AUG context: Role of the N and Nss proteins) **Vera-Otarola, J.**¹, Lopez-Lastra, M.¹ Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.
- 10:45 **ROL DE LA PORINA OMPD DE *Salmonella enterica serovar Typhimurium* FRENTE A COMPUESTOS OXIDANTES Y MODULACIÓN DE SU EXPRESIÓN EN CONDICIONES DE ESTRÉS OXIDATIVO.** (Role of the *Salmonella enterica serovar Typhimurium* OmpD porin with oxidative compounds and expression modulation in stress oxidative conditions.) **Caro, N.J.**¹, Calderón, I.L.¹, Collao, B.G.¹, Ortega, A.P.¹, Chahuan, C.A.¹, Saavedra, C.P.¹ Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello¹.
- 11:00-11:30 **CAFÉ**

Sala C

11:30-13:15 SIMPOSIO 2 : PARED CELULAR Y BIOCOMBUSTIBLES

Coordinador: Ariel Orellana

- 11:30 **Presentación.** Ariel Orellana. Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello.
- 11:45 **XYLOGLUCAN BIOSYNTHESIS IN THE GOLGI MEMBRANES OF PLANT CELLS** (La biosíntesis de Xiloglucano en las membranas de Golgi de las células vegetales) **Keegstra, K.**¹, Cavalier, D.¹, Danhof, L.¹, Davis, J.¹, Wilkerson, C.¹ DOE Great Lakes Bioenergy Research Center, Michigan State University, East Lansing, MI, USA¹.
- 12:15 **MODIFICATION OF PLANT CELL WALL SUGAR COMPOSITION FOR BIOREFINING AND BIOENERGY** (Modificación de la composición de azúcar de la pared celular de las plantas para la Biorefinación y la Bioenergía) **Dupree, P.**¹ Department of Biochemistry, University of Cambridge, Building O, Downing Site, Cambridge, CB2 1QW, UK¹.
- 12:45 **PHOTOSYNTHESIS AND CARBON METABOLISM IN SUGARCANE UNDER ELEVATED CO₂: IMPLICATIONS FOR BIOENERGY PRODUCTION** (Fotosíntesis y metabolismo del carbono en caña de azúcar en virtud de elevado CO₂ : consecuencias para la producción de bioenergía) Pereira de Souza, A.^{1,2}, **Buckridge, M.**^{1,2,3} Department of Botany, University of Sao Paulo ¹. Instituto Nacional de Ciencia e Tecnologia do Bioetanol (INCT-Bioetanol) ². Center of Science and Technology of Bioethanol (CTBE)³.

13:15-14:30 **ALMUERZO**

Sala C

15:00-16:30 TRABAJOS DE INCORPORACIÓN 1

Presidente: Simón Ruiz

Secretario : Raúl Herrera

- 15:00 **IDENTIFICACIÓN DE LOS MECANISMOS MOLECULARES AFECTADOS POR SORTIN2, UN COMPUESTO QUE ALTERA EL SISTEMA DE ENDOMEMBRANAS** (Identification of the molecular mechanisms affected by Sortin2, a compound that alters the endomembrane system) **Norambuena, L.**^{1,2}, Manríquez, N.^{1,2}, Nova, N.¹,

Pérez, P.^{1,2} Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹. Núcleo Milenio en Biotecnología Celular Vegetal². Patrocinante: Guixé, V.

15:30 **ANÁLISIS TRANSCRIPCIONAL DE GENES ASOCIADOS A LA DEGRADACIÓN DE PARED CELULAR DURANTE LA MADURACIÓN DE FRUTOS DE *Fragaria chiloensis*** (Transcriptional analysis of cell wall degrading genes during *Fragaria chiloensis* fruit ripening) **Figueroa, C.R.**¹, Pimentel, P.¹, Dotto, M.C.², Martínez, G.A.², Civello, P.M.², Herrera, R.¹, Moya-León, M.A.¹ IBVB, Universidad de Talca¹. IIB-INTECH, Argentina².

16:00 **CAMBIOS EN EXPRESION GÉNICA INDUCIDOS POR INFECCIONES VIRALES AFECTAN LA MADURACIÓN Y LA SÍNTESIS DE ANTOCIANOS EN BAYAS DE *Vitis vinifera*** (Changes in gene expression induced by viral infections affects ripening and anthocyanin biosynthesis in grape berries) **Vega, A.**¹, Arce-Johnson, P.¹ Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Sala C

16:30-18:00 CONFERENCIA PABMB

Presenta: Juan Olate

REDES DE SEÑALIZACIÓN REGULADAS POR PROTEÍNA G Y CÁNCER (G Protein-Regulated Signaling Networks and Cancer) **Gutkind, J.S.**¹ Oral and Pharyngeal Cancer Branch, NIDCR, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA¹.

12:45-14:30 **ALMUERZO**

Sala C

18:30-20:30 TRABAJOS DE INCORPORACIÓN 2

Presidente: Claudio Vásquez

Secretario : Paulina Bull

18:30 **EFFECTO DEL COBRE Y HIERRO SOBRE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LAS OXIDASAS MULTICOBRE DEL HONGO BASIDIOMICETE *Phanerochaete chrysosporium*** (Effects of copper and iron on the expression and enzymatic activity of the multicopper oxidases from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*) **Canessa, P.**¹, Vicuña, R.¹ Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

19:00 **EVOLUCIÓN DE LA ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO EN LA FAMILIA DE QUINASAS DEPENDIENTES DE ADP. EL PROBLEMA DE LA ENZIMA BIFUNCIONAL** (Substrate specificity evolution of the ADP-dependent sugar kinase family. The problem of the bifunctional enzyme) **Merino, F.**¹, Caniuguir, A.¹, Yakunin, A.², Guixé, V.¹ Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹. Midwest Center for Structural Genomics, Toronto, Ontario, Canada².

19:30 **EFFECTO DE ETOH SOBRE LA PROTEÍNA hG α S** (ETOH effect on the hG α s protein) **Romo, X.**¹, Zepeda, P.², Quiñones, K.², Vidal, P.², Aguayo, L.² Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andres Bello¹. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepcion².

20:00 **EVENTOS DE FISIÓN Y FUSIÓN CONTROLAN LA SEGREGACIÓN DE LAS MITOCONDRIAS Y SU ELIMINACIÓN VÍA AUTOFAGIA** (Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy) **Elorza, A.**¹, Twig, G.², Molina, A.³, Mohamed, H.², Wikstrom, J.³, Walzer, G.⁴, Stiles, L.², Haigh, S.³, Katz, S.², Las, G.³, Alroy, J.², Wu, M.⁵, Py, B.⁶, Yuan, J.⁶, Deeney, J.³, Corkey, B.³, Shirihai, O.^{2,3}. Universidad Andres Bello¹. Tufts University². Boston University³. MIT⁴. Seahorse Bioscience Inc⁵. Harvard Medical School⁶. Patrocinante: Polanco, R.

20:30-22:00 **CENA**

Sala B

22:00-24:00 PANELES IMPARES :

Coordinador: José L. Gutiérrez

JUEVES 24 DE SEPTIEMBRE

Sala C

09:00-11:00 COMUNICACIONES LIBRES V : EXPRESIÓN GÉNICA

Presidente: Ariel Orellana

Secretario : Alejandra Moya

- 09:00 **PAPEL DE AtGrxS13 EN EL CONTROL REDOX BAJO ESTRÉS ABIÓTICO EN ARABIDOPSIS** (Role of AtGrxS13 in the redox control under abiotic stress in Arabidopsis plants) **Laporte, D.**¹, Olate , E.¹, Salazar, M.¹, Blanco, F.¹, Salinas, P.¹, Holuigue, L.¹ Pontificia Universidad Católica de Chile¹.
- 09:15 **ESTUDIO DE LA BIOSÍNTESIS DE CAROTENOIDES EN *Daucus carota* (ZANAHORIA)**. (Carotenoid Biosynthesis Study in *Daucus carota* (carrot).) Pizarro, L.¹, Fuentes, P.¹, **Stange, C.**¹ Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.
- 09:30 **ANÁLISIS FUNCIONAL DE LAS SECUENCIAS REGULADORAS PRESENTES EN EL PROMOTOR DEL GEN *gpdP*, QUE CODIFICA PARA LA GLICERALDEHIDO-3-FOSFATO DESHIDROGENASA DE *Penicillium camemberti*** (Functional analysis of regulatory sequences located in the promoter of *gpdP* gene, which encodes for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Penicillium camemberti*) **Chávez, R.**¹, Espinosa, Y.¹, Sepúlveda, F.¹, Cadena, J.¹, Vaca, I.² Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile².
- 09:45 **EFFECTO DE LA SUPRESIÓN DEL GEN *FcMYB1* MEDIADA POR RNAi EN LA SÍNTESIS DE ANTOCIANINAS EN FRUTOS DE FRUTILLA NATIVA, *Fragaria chiloensis* L. (DUCH)** (Effect of FcMYB1 supression RNAi-mediated in anthocyanin synthesis in native strawberry fruit, *Fragaria chiloensis* L. (Duch.)) **Salvatierra, A.**¹, Pimentel, P.¹, Moya-León, A.¹, Caligari, P.¹, Herrera, R.¹ Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular, IBVB, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca, Chile¹.
- 10:00 **LA TRANSCRIPCIÓN DE UN cDNA CON ALTA IDENTIDAD A UNA ACUAPORINA DE LA SUBFAMILIA NIP SE INCREMENTA DURANTE EL DESARROLLO DEL FRUTO DE *Fragaria chiloensis* L. (DUCH.)** (The transcription of a cDNA with high identity to an aquaporin belonging to the NIP subfamily is increased during development of *Fragaria chiloensis* fruit.) **Pimentel, P.**¹, Salvatierra, A.¹, Moya-León, A.¹, Herrera, R.² Laboratorio

Fisiología Vegetal y Genética Molecular, IBVB, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca, Chile¹. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca².

- 10:15 **FUNCIÓN DE UN FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN bZIP EN LA TOLERANCIA A ESTRÉS Y REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN TOMATE** (Role of a bZIP transcription factor in stress tolerance and regulation of gene expression in tomato) **Orellana, S.**¹, Yañez, M.¹, Ruiz-Lara, S.¹, Casaretto, J.A.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Talca, Chile¹.
- 10:30 **EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE ENZIMAS HEMICELULOLÍTICAS POR PARTE DE *Penicillium purpurogenum* CRECIDO EN COSETA DE REMOLACHA Y XILANO ACETILADO** (Differential expression of hemicellulolytic enzymes by *Penicillium purpurogenum* when grown on sugar beet pulp and acetylated xylan) **Navarrete, M.**¹, Callegari, E.², Eyzaguirre, J.¹ Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello¹. Universidad de Dakota del Sur, Vermillion, SD, USA².
- 10:45 **ANÁLISIS DE BIBLIOTECAS SUBSTRACTIVAS ESPECÍFICAS DE LA RESPUESTA GRAVITRÓPICA EN *Pinus radiata* D. DON.** (Analysis of subtractive specific libraries of gravitropic response in *Pinus radiata* D. Don.) **Ramos Campos, P.**¹, Cruz, N.¹, Gantz, C.², Herrera Faundez, R.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca¹. Forestal Mininco².

Sala 1

09:00-11:00 COMUNICACIONES LIBRES VI: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS

Presidente: Jaime Eyzaguirre

Secretario : Ricardo Cabrera

- 09:00 **DETERMINACIÓN DE LAS VÍAS PREFERENCIALES DE TRANSFERENCIA DE LUZ EN R-FICOERITRINA DE *Gracilaria chilensis*** (Determination of preferential pathways for light conduction in R-phycoerythrin from *Gracilaria chilensis*) **Sepúlveda-Ugarte, J.**¹, Figueroa, M.¹, Martínez-Oyanedel, J.¹, Bunster, M.¹ Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.
- 09:15 **POLIMERIZACIÓN *in vitro* DE LA TUBULINA BACTERIANA BtubA/B** (*In vitro* polymerization of the bacterial tubulin BtubA/B) **Díaz Celis, C.D.**¹, Risca, V.², Hansen, S.³, Hurtado, F.⁴, Monasterio, O.⁴ Programa de Doctorado en Microbiología, Universidad de Santiago¹. Universidad de California, Berkeley². Universidad de California, San Francisco³. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile⁴.
- 09:30 **ANÁLISIS ESTRUCTURAL DEL PROCESO DE OLIGOMERIZACIÓN EN ARGINASA DE HÍGADO HUMANA** (Structural analysis of oligomerization process in Human Liver Arginase) **Jaña-Pérez, N.**¹, Carvajal, N.², Martínez-Oyanedel, J.¹ Laboratorio de Biofísica Molecular Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹. Laboratorio de Enzimología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción².
- 09:45 **INTERACCIONES COULÓMBICAS EN EL SITIO ACTIVO DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA DE *Saccharomyces cerevisiae* ¿RELEVANTES PARA LA UNIÓN DE Mn²⁺?** (Coulombic interactions at the active site of *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase. Are they relevant for Mn²⁺ binding?)

Sepúlveda, C.¹, Cardemil, E.¹ Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹.

- 10:00 **ESTUDIOS DE UNIÓN A DNA DEL DOMINIO N-TERMINAL DE LA INTEGRASA DEL VIRUS DE LA LEUCEMIA MURINA DE MOLONEY** (DNA binding studies of the isolated N-terminal domain of Moloney murine leukemia virus integrase) **Vargas, D.**¹, Henríquez, D.¹, León, O.¹ Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹.
- 10:15 **ESTUDIO A TRAVÉS DE MUTANTES DE DELECCIÓN PARA DETERMINAR LA REGIÓN CON ACTIVIDAD GEF DE xRIC-8 BASADO EN UN MODELO TRIDIMENSIONAL** (Studies through deletion mutants to determinate the region with GEF activity of xRIC-8 based in a 3D model) **Figueroa, M.**¹, Hinrichs, M.V.¹, Martínez-Oyanedel, J.¹, Olate, J.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.
- 10:30 **IDENTIFICACIÓN DE RESIDUOS ESENCIALES PARA LA ACTIVIDAD FUSOGÉNICA DE LA PROTEÍNA Gc DEL VIRUS ANDES** (Identification of essential residues for the Andes virus Gc fusion activity) **Cifuentes-Muñoz, N.**¹, Barriga, G.¹, Darlix, J.², Valenzuela, P.D.^{1,3}, Tischler, N.D.¹ Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio MIFAB, Santiago, Chile¹. LABORETRO, INSERM 758 ENS-Lyon, Francia². Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile³.
- 11:00-11:30 **CAFÉ**

Sala C

11:30-12:45 CONFERENCIA SEVERO OCHOA

Presenta: Xavier Jordana

EVOLUCIÓN DEL RIBOSOMA: APARICIÓN DE NUEVAS FUNCIONES REGULADORAS DE LA TRADUCCIÓN (Ribosome evolution: Emergence of new regulatory role of translation) **García Ballesta, J.**^{1,2} Centro Biología Molecular Severo Ochoa¹, Departamento de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid, España².

18:00-18:30 **CAFÉ**

Sala B

14:30-16:30 POSTER PARES

Coordinador: Marcia Puchi

Sala C

15:00-16:15 CHARLAS TÉCNICAS

Coordinador: Gino Corsini

15:00 **CHARLA TÉCNICA GENESYS**

15:45 **CHARLA TÉCNICA FERMELO**

Sala C

16:30-18:15 SIMPOSIO 3 :METABOLISMO INTERMEDIARIO

Coordinador: Sergio Lavandero

- 16:30 **LA DINÁMICA MITOCONDRIAL COMO CONECTOR DE LA MORFOLOGÍA MITOCONDRIAL Y EL METABOLISMO CELULAR** (The mitochondrial dynamics as connector of mitochondrial morphology and cellular metabolism) **Zorzano, A.**^{1,2,3}. Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona) c/ Baldori Reixac 10-12, Barcelona¹, Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona², CIBERDEM, Instituto de Salud Carlos III, Spain³.
- 17:05 **SEÑALIZACIÓN DE INSULINA EN EL CORAZÓN** (Insulin Signaling in the Heart) **Dale, A.**¹ University of Utah School of Medicine, USA¹.
- 17:40 **NUEVAS ACCIONES DE INSULINA SOBRE METABOLISMO Y DINÁMICA MITOCONDRIAL EN EL CORAZÓN** (New actions of insulin on metabolism and mitochondrial dynamics in the heart) **Lavandero S.**^{1,2} Centro FONDAPE Estudios Moleculares de la Célula¹. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas/Facultad de Medicina, Universidad de Chile².
- 18:15-18:45 **CAFÉ**

Sala C

18:45-20:00 CONFERENCIA OSVALDO CORI

Presenta: Loreto Holuigue

¿PORQUÉ ES TAN TÓXICO EL TELURITO DE POTASIO (K_2TeO_3)? (Why is potassium tellurite (K_2TeO_3) so toxic?) Arenas, F.¹, Sandoval, M.¹, Pradenas, G.¹, Elias, A.¹, Pérez, J.¹, **Vásquez, C.**¹ Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹.

Sala C

20:00-20:45 CONFERENCIA CIENCIA DE FRONTERAS

Presenta: Danilo González

NANOTUBOS DE CARBONO (Carbon nanotubes) **Bollo Dragnic, S.**¹ Laboratorio de Bioelectroquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹.

21:00 **CENA DE CLAUSURA, PREMIOS FERMELO, FIESTA DE CLAUSURA**

VIERNES 25 DE SEPTIEMBRE

SALA C

10:30-11:30 **PREMIO MEDALLA HERMANN NIEMEYER**

Presenta: Victoria Guixé



CONFERENCIAS



CONTROL TRADUCCIONAL POR miRNAs Y PROTEÍNAS DE UNIÓN

A RNA (Translational control by miRNAs and RNA-binding proteins) **Hentze, M.W.**¹ European Molecular Biology Laboratory, Meyerhofstrasse 1, D-69117 Heidelberg, Germany¹.

For decades, translational control has been thought of as a process that makes rather minor contributions to overall gene regulatory networks in eukaryotic cells and organisms. The past few years have witnessed an explosion of examples of translational control and a complete re-evaluation of translational control as a central principle for gene regulation with broad biological scope, including developmental biology, cell metabolism, stem cell biology and cell differentiation, cell proliferation and cancer, and neurobiology, just to name a few. Protein synthesis is controlled via two interdependent processes: the assembly of translation factors and ribosomes on the mRNA template, and the formation of mRNPs that promote or impede the former process. The regulation of the translational state of mRNPs by regulatory trans-acting factors [RNA-binding proteins, microRNAs (miRs)] has emerged as a major principle for the control of gene expression. Since the discovery of ferritin mRNA translation via the IRE/IRP system, we have investigated the molecular mechanisms underlying translational control by trans-acting factors. Methodologically, the establishment of faithful cell-free systems has frequently served as a key step towards deciphering the underlying mechanisms. I plan to introduce general principles of translational control and discuss new insights into two highly informative model systems, the regulation of *Drosophila* msl-2 mRNA translation by the RNA-binding protein Sex-lethal (SXL) and the co-repressor UNR, as well as the mechanism of translational control by *Drosophila* miR 2.

EVOLUCIÓN DEL RIBOSOMA: APARICIÓN DE NUEVAS FUNCIONES REGULADORAS DE LA TRADUCCIÓN

(Ribosome evolution: Emergence of new regulatory role of translation) **García Ballesta, J.**^{1,2} Centro Biología Molecular Severo Ochoa¹, Departamento de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid¹, Madrid, España².

El papel central que el ribosoma desempeña en la traducción hace inevitable que mutaciones en su estructura tengan efectos importantes sobre el propio proceso sintético, como ya se describió en los estudios ribosómicos iniciales. Sin embargo, en los últimos años se están acumulando ejemplos indicando que la célula, especialmente la eucariótica, puede inducir determinadas modificaciones ribosómicas como un mecanismo regulador de la traducción. Son varios los mecanismos propuestos para explicar el efecto regulador del ribosoma. En nuestro laboratorio estamos trabajando en uno de los casos de regulación ribosómica de la traducción mejor documentados que implica la participación del llamado tallo ribosómico (TR). El TR es un dominio universal de la subunidad ribosómica mayor formado por un complejo proteico pentamérico fundamental para la acción de los factores solubles de la traducción. El complejo procarrióico es flexible pero altamente estable en su composición. La evolución, además de incrementar su complejidad estructural, incluyendo la fosforilación de sus componentes, ha aumentado notablemente su dinamismo, facilitando que su composición no sea constante y permitiendo la existencia de subpoblaciones ribosómicas con diferentes conformaciones en el TR. Todas las subpoblaciones son activas pero su eficacia para traducir diferentes mRNAs no es idéntica. De esta forma, el patrón global de proteínas traducidas depende de la proporción relativa de cada subpoblación, la cual la célula parece adaptar a las condiciones metabólicas en las que se encuentra modulando la acumulación de los componentes del TR y posiblemente su fosforilación.

REDES DE SEÑALIZACIÓN REGULADAS POR PROTEÍNA G Y CÁNCER (G Protein-Regulated Signaling Networks and Cancer) **Gutkind, J.S.**¹. Oral and Pharyngeal Cancer Branch, NIDCR, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA¹.

With nearly one thousand members, the family of G protein-coupled receptors (GPCRs) constitutes the largest group of cell surface proteins involved in signal transduction. These receptors are activated by a diverse array of ligands, including neurotransmitters, hormones, chemokines, growth factors, lipid mediators, and even light photons. GPCRs participate in a wide variety of physiological functions and human disease conditions, as reflected by the fact that GPCRs are the target of 50-60% of all current therapeutic agents. The role of GPCRs in tumorigenesis is an area of active investigation, as although there are infrequent mutations in GPCRs, these receptors contribute to tumor progression when persistently stimulated by tumor or stromal-released agonists. Emerging information on how cancer cells co-opt chemokine networks and their G protein-initiated signaling circuitry to promote angiogenesis and to invade their surrounding and target tissues will be discussed. GPCR also play a central role in viral infection and viral tumorigenesis. For example, the Kaposi's sarcoma (KS) associated herpesvirus (KSHV), the infectious cause of KS, the most common AIDS-associated neoplasm, expresses a constitutively active GPCR, vGPCR. Surprisingly, while using an in vivo endothelial specific retroviral gene transfer system to express KSHV oncogenes in mice, we observed that among many KSHV genes tested, only vGPCR was able to promote KS-like vascular lesions. Current studies exploring the molecular mechanisms underlying the transforming activity of vGPCR will be also presented. Ultimately, this knowledge may provide unique opportunities for cancer prevention and treatment.

¿POR QUÉ ES TAN TÓXICO EL TELURITO DE POTASIO (K₂TEO₃)?

(Why is potassium tellurite (K₂TeO₃) so toxic?) Arenas, F.¹, Sandoval, M.¹, Pradenas, G.¹, Elias, A.¹, Pérez, J.¹, **Vásquez, C.**¹ Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹.

El telurio (Te) comparte características con otros elementos biológicamente importantes como oxígeno, azufre y selenio. En su forma elemental (Te⁰) no exhibe toxicidad, pero sus oxianiones teluritos (TeO₃²⁻) y teluratos (TeO₄²⁻) son tóxicos para los seres vivos. En general, la evidencia disponible indica que el telurito es lejos más tóxico que cualquier otro compuesto de metales o metaloides. No se conoce si el Te participa en la química de la célula y su interés radica principalmente en su toxicidad; así, las bases genéticas y/o bioquímicas de la toxicidad bacteriana del TeO₃²⁻ están lejos de ser comprendidas. Evidencias recientes insinúan que la resistencia a telurito no se relacionaría con genes específicos, sino más bien con genes del metabolismo normal que jugarían un papel importante en la defensa al tóxico. Por ejemplo se ha demostrado que la toxicidad del TeO₃²⁻ se debe en parte a la oxidación de tioles celulares y a la génesis de anión superóxido que ocurre durante la reducción intracelular de telurito (Te⁴⁺) a Te⁰. ¿Por qué es este compuesto tan tóxico? ¿Cuáles son sus blancos intracelulares? ¿Cuáles tioles, aparte de GSH, disminuyen en células expuestas al tóxico? ¿Por qué se asume el riesgo de reducir Te⁴⁺ a Te⁰ si ello conlleva la concomitante generación de superóxido? ¿Qué mecanismos subyacen a la toxicidad del telurito en bacterias? Nuestra investigación intenta responder al menos en parte estas preguntas usando aproximaciones bioquímicas, genéticas, fisiológicas y de biología molecular. Fondecyt 1090097, Dicyt-USACH.



NANOTUBOS DE CARBONO (Carbon nanotubes) **Bollo Dragnic,** S.¹ Laboratorio de Bioelectroquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹.

La nanotecnología se define como la creación de materiales funcionales, dispositivos y/o sistemas de control que funcionan en la escala de 1-100 nm. Estos materiales presentan propiedades electrónicas, ópticas, térmicas y catalíticas especiales, lo que les permite tener grandes proyecciones en campos tan variados como la física, química, biología, medicina y las ciencias de los materiales. Dentro de los materiales que más impacto han tenido encontramos a los nanotubos de carbono que presentan excelentes propiedades electrocatalíticas. En esta presentación se mostrarán los resultados obtenidos utilizando nanotubos de carbono para la generación de sensores electroquímicos tanto desde la caracterización básica de las modificaciones como sus aplicaciones a la detección de ADN y su interacción con moléculas orgánicas, como a la detección de peróxido de hidrógeno. Los resultados muestran que los electrodos modificados con solventes como DMF y agua presentan superficies homogéneas y conductoras. Por otro lado cuando se utilizan polímeros como quitosano y nafion se generan superficies menos homogéneas, con claras zonas de alta conductancia y otras de baja, lo que indica una distribución poco homogénea de los CNTs sobre el electrodo. La aplicación de los electrodos modificados muestra que la selección del agente dispersante así como el tipo de nanotubo utilizado es esencial en la respuesta del sensor.



SIMPOSIOS

SIMPOSIO 1: ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA

CONTENIDOS CURRICULARES DE LAS CARRERAS DE BIOQUÍMICA EN LAS UNIVERSIDADES CHILENAS (Curriculum contents in biochemistry careers at Chilean Universities) **Martínez-Oyanedel, J.**¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

En Chile se inició la carrera de Bioquímica en el año 1957, en la Universidad de Chile y la Universidad de Concepción. Hoy son 8 las Universidades que dictan esta carrera algunas de ellas con una formación especializada en alguna de las áreas profesionales del Bioquímico. En el presente trabajo se presentan una comparación de la carga académica de las currículas de las diferentes Universidades respecto de los contenidos definidos en el currículo básico para la formación en Bioquímica de la Asociación Americana de Bioquímica y Biología Molecular. Se discuten, además algunas de las competencias en técnicas bioquímicas básicas y habilidades de comunicación científica.

HAS THE CONTENT IN INTRODUCTORY BIOCHEMISTRY COURSES REACHED A LIMIT? (¿Han llegado a un límite los contenidos de un Curso Introductorio de Bioquímica?) **Voet, D.**¹ Chemistry Department, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A¹.

Tens of thousands of biochemists have been working hard over many decades to push back the frontiers of biochemistry and molecular biology. In doing so, they have generated an enormous amount of information and continue to do so at an ever-increasing rate. Yet, the amount of time and effort that students are able to devote to an introductory biochemistry course has remained unchanged. How can teachers and textbooks deal with this conflict between an irresistible force and an immovable object? In the past, the contents of introductory biochemistry courses have changed rapidly to incorporate newly discovered biochemical concepts. I will argue that the contents of modern introductory biochemistry courses have matured to the point that, in the future, this rate of change will greatly slow, much as has been the case over the past several decades with introductory chemistry courses.

HOW CAN NEW LEARNING TECHNIQUES AND NEW FORMS OF COMPUTERIZED ANCILLARY MATERIALS BE INTEGRATED INTO THE BIOCHEMISTRY CURRICULUM? (¿Cómo pueden integrarse las nuevas técnicas de aprendizaje y los nuevos materiales informáticos auxiliares, en el Currículum de los Bioquímicos?) **Voet, J.**¹ Chemistry and Biochemistry Department, Swarthmore College, Swarthmore, PA, USA¹.

Educational techniques in biochemistry and molecular biology are rapidly evolving. In addition to the traditional textbooks and blackboard presentations, we now have PowerPoints, videos, interactive molecular graphics, clicker questions, web-based bioinformatics exercises, computerized quizzes, and computerized course management systems. Many of these new materials are now part of the internet package provided by textbook publishers. In addition to multimedia ancillary materials, lectures are being supplemented with active learning pedagogies. The time available for learning and teaching biochemistry has not changed, however. How can we integrate these techniques into the biochemistry curriculum without overwhelming students and faculty alike? Are there ways of approaching this challenge?

HERRAMIENTAS PARA LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA (Tools for the Teaching of Biochemistry) **Beltramini, L.M.**^{1,2,3} Centro de Biotecnología Molecular Estructural¹. Instituto Nacional Biotecnología Estructural e Química Medicinal em Doenças Infeciosas². Instituto de Física de Sao Carlos da Universidade de Sao Paulo, Brasil³.

What tools for the teaching of structural biology and biotechnology at all teaching levels have we been using? Great text books with basic and recent topics are available, and animation programs can be found at websites for Biochemistry and Molecular Biology teaching. Electronic blackboard and laboratory work are recommended. We know that the success of teaching depends not only on technology, but also an appropriate set of lectures, tutorials, including problem based approaches (or similar methods) and laboratory work. High technology such as 1 PC per student, 1 multimedia system per class, excellent laboratories can be used; however, this is not the Brazilian reality since we keep using the "Socratic" method for undergraduate teaching. Then we place the question: How are we teaching biochemistry topics in the high school? Some tools have been developed to be used in the classroom at several learning levels. These teaching/learning resources have been evaluated in Brazil as well as in other countries at different teaching levels ranging from elementary schools to undergraduate and graduate courses. Some of the resources, namely card games, gyrotory discs, interactive media, pieces to build molecular structures (nucleotides, DNA, RNA, amino acids and protein structures) are available on the CBME portal (<http://cbme.usp.br>) and also on the Brazilian Education Ministry at the MEC website. These materials have been used in the classroom and at the interactive science museum to help students and the community understand structural biology and biotechnology.

SIMPOSIO 2: PARED CELULAR Y BIOCOMBUSTIBLES

XYLOGLUCAN BIOSYNTHESIS IN THE GOLGI MEMBRANES OF PLANT CELLS (La biosíntesis de Xiloglucano en las membranas de Golgi de las células vegetales) **Keegstra, K.**¹, Cavalier, D.¹, Danhof, L.¹, Davis, J.¹, Wilkerson, C.¹ DOE Great Lakes Bioenergy Research Center, Michigan State University, East Lansing, MI, USA¹.

Plant biomass is a major renewable resource that can be used in the production of biofuels and other chemicals. It consists mainly of plant cell wall polymers including cellulose, hemicellulose and lignin. In spite of their abundance in nature and their importance in the emerging biofuels industry, too little is known about the biosynthesis of these cell-wall components. Hemicellulosic polysaccharides are known to be synthesized in the Golgi before their delivery to the cell surface. Identification and characterization of the enzymes require for the synthesis of hemicellulosic polysaccharides, such as xyloglucan, have been difficult because they are low abundance, integral membrane proteins. Consequently, we have pursued a functional genomics strategy, taking advantage of the genome sequence information that is available for many plant species, including Arabidopsis. The proteins needed for the synthesis of xyloglucan from the various sugar nucleotides have been identified and partially characterized. However, many important questions regarding the molecular details of xyloglucan biosynthesis remain to be determined. The lecture will review the work leading to the identification of the enzymes needed for xyloglucan biosynthesis and present current efforts to understand the topology of these enzymes in the Golgi membrane.

MODIFICATION OF PLANT CELL WALL SUGAR COMPOSITION FOR BIOREFINING AND BIOENERGY (Modificación de la composición de azúcar de la pared celular de las plantas para la Biorefinación y la Bioenergía) **Dupree, P.**¹ Department of Biochemistry, University of Cambridge, Building O, Downing Site, Cambridge, CB2 1QW, UK ¹.

Plant cell wall polysaccharides are of enormous importance in industry and agriculture. There are many issues with the use of biomass for renewable products, including the difficulty in extracting the polymers and converting to monosaccharides. We do not understand either the role of the different plant cell wall components or how they might best be altered to improve their properties for the various applications. In the BBSRC sustainable bioenergy centre are discovering the processes of cell wall synthesis, and studying the importance for plant growth and for processing. Most plant cell wall polysaccharides are synthesized in the Golgi apparatus by a largely unknown set of enzymes. To discover proteins involved in the synthesis of these glycans, we have been analyzing the protein composition of the Golgi apparatus by developing new proteomics tools. We have identified putative glycosyltransferases, sugar transporters and other novel proteins in the Golgi apparatus in Arabidopsis. We prioritise the study of candidates by integrating transcriptomic and proteomic datasets to predict function. We are studying the corresponding mutant plants using our enzymatic polysaccharide profiling technique PACE, which reveals structure and quantity of oligosaccharides released by cell wall polysaccharide digestion. Plants with altered cell wall polysaccharides have recently been identified, and can begin to suggest the potential for future breeding plants with altered biomass composition.

PHOTOSYNTHESIS AND CARBON METABOLISM IN SUGARCANE UNDER ELEVATED CO₂: IMPLICATIONS FOR BIOENERGY PRODUCTION (Fotosíntesis y metabolismo del carbono en caña de azúcar en virtud de elevado CO₂: consecuencias para la producción de bioenergía) Pereira de Souza, A.^{1,2}, **Buckridge, M.**^{1,2,3} Department of Botany, University of Sao Paulo, ¹. Instituto Nacional de Ciencia e Tecnologia do Bioetanol (INCT-Bioetanol)². Center of Science and Technology of Bioethanol (CTBE)³.

One interesting feature of sugarcane, which is related to the fact that it stores so much sucrose in culms, is that it hardly accumulates starch in its tissues, being a typical sucrose storer. This indicates that the starch synthesis module is probably bypassed by the cell wall and sucrose syntheses ones. When sugarcane plants were grown under elevated CO₂, i.e. twice the actual CO₂ concentrations, an increase in photosynthesis was observed which were related to the light harvesting gene expression and light processing. The elevated CO₂ also accelerated growth, increased biomass and changed slightly the Sucrose-Starch-Wall-Network (SSWN) relationship whereas less starch was produced. Usually, more input of carbon leads an increase of starch, but in sugarcane this seems to be the opposite. This study opened the way to investigate the likely candidates genes that connect these networks. The most likely to influence directly are the genes that encode ADP-glucose pyrophosphorilase (ADPGpp), UDP-glucose pyrophosphorilase (UDPGpp), which are the enzymes that connect to production of starch and to sucrose/cell wall syntheses pathways respectively. They can be thought as primary targets to study because these are the enzymes that coordinate the distribution of sugars towards different carbon allocation modes in sugarcane plant system. Our findings suggest that, in sugarcane, the modulation of the SSWN might be a interesting form to control carbon allocation in the different forms in sugarcane. Financed by FAPESP, MCT and Eletronorte.

SIMPOSIO 3: METABOLISMO INTERMEDIARIO

SEÑALIZACIÓN DE INSULINA EN EL CORAZÓN (Insulin Signaling in the Heart) Dale, A.¹ University of Utah School of Medicine, USA¹.

Our laboratory has focused on elucidating the consequences of insulin signaling in the heart and the extent to which impaired myocardial insulin action might contribute to cardiac pathology in diabetes. The lecture will review the effect of insulin and IGF-1 signaling on the regulation of the mitochondrial proteome, mitochondrial metabolic capacity and the generation of superoxide. We will also review recent insights gained into the regulation of autophagy by insulin in the heart.

LA DINÁMICA MITOCONDRIAL COMO CONECTOR DE LA MORFOLOGÍA MITOCONDRIAL Y EL METABOLISMO CELULAR (The mitochondrial dynamics as connector of mitochondrial morphology and cellular metabolism) Zorzano, A.^{1,2,3} Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona) c/ Baldori Reixac, 10-12, Barcelona¹ Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona². CIBERDEM, Instituto de Salud Carlos III, Spain³.

Las mitocondrias forman filamentos o redes en las células, y la arquitectura específica de la red mitocondrial es consecuencia de las velocidades relativas de los procesos de fusión y de fisión mitocondriales. Existe una evidencia creciente que indica que las proteínas implicadas en fusión o fisión mitocondrial presentan asimismo un papel en el control del metabolismo celular. Esto es particularmente relevante en el caso de la proteína de fusión mitocondrial mitofusina 2 (Mfn2). En este sentido, se ha descrito que la modulación de Mfn2 en distintos tipos celulares conduce a cambios en la respiración celular, en la velocidad de oxidación de distintos sustratos energéticos así como en la expresión de subunidades del denominado sistema OXPHOS (cadena respiratoria y fosforilación oxidativa). La expresión de la proteína Mfn2 está regulada por los coreguladores nucleares PGC-1 α y PGC-1 β , y probablemente a través de ese mecanismo, se ha descrito que la proteína PGC-1 α induce fusión mitocondrial en células musculares. De manera opuesta, individuos obesos o pacientes diabéticos de tipo 2 muestran una reducción en la expresión génica de Mfn2 en el músculo esquelético, y la pérdida masiva de peso asociada a cirugía bariátrica conduce a la inducción de Mfn2. Se ha propuesto que estos cambios en la expresión de Mfn2 pudieran ejercer una función reguladora y explicar en parte la disfunción mitocondrial asociada a la obesidad y a la diabetes de tipo 2.

NUEVAS ACCIONES DE INSULINA SOBRE METABOLISMO Y DINÁMICA MITOCONDRIAL EN EL CORAZÓN (New actions of insulin on metabolism and mitochondrial dynamics in the heart) Lavandero, S.^{1,2}.

Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula¹. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas/Facultad de Medicina, Universidad de Chile².

El metabolismo cardiaco es un proceso clave para el normal funcionamiento contráctil del corazón. Su incesante trabajo requiere de la generación de grandes cantidades ATP, la cual se logra a través de la utilización de diferentes sustratos metabólicos y su catabolismo a nivel mitocondrial. Todos estos procesos son regulados por diferentes hormonas, teniendo insulina un papel protagónico. Esta presentación se focalizará a dos nuevos aspectos de la acción de insulina en el corazón: a) El papel de la vía transduccional del IP3/receptor IP3/Ca²⁺ en la captación de glucosa y movilización de transportadores GLUT4 en el cardiomiocito y b) Los efectos de insulina en dinámica y metabolismo mitocondrial del cardiomiocito. Proyectos FONDECYT 1080436 y FONDAP 15010006.

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN

IDENTIFICACIÓN DE LOS MECANISMOS MOLECULARES AFECTADOS POR SORTIN2, UN COMPUESTO QUE ALTERA EL SISTEMA DE ENDOMEMBRANAS (Identification of the molecular mechanisms affected by Sortin2, a compound that alters the endomembrane system) **Norambuena, L.**^{1,2}, **Manríquez, N.**^{1,2}, **Nova, N.**¹, **Pérez, P.**^{1,2}. Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹. Núcleo Milenio en Biotecnología Celular Vegetal². **Patrocinante: Guixé, V.**

La genómica química se basa en el uso de compuestos químicos capaces de alterar funciones biológicas, interactuando con proteínas que comparten características estructurales y funcionales que pueden ser codificadas por distintos genes. Esto constituye una ventaja al comparar esta estrategia con la genética clásica. Sortin2 es un compuesto sintético que altera el tráfico de una proteína vacuolar en levaduras y plantas. Un estudio en *S. cerevisiae* reveló que Sortin2 tiene un efecto celular principalmente en el sistema de endomembranas lo que lo ha posicionado como una útil herramienta para estudiar este indispensable y complejo sistema. Hemos encontrado que en *A. thaliana*, Sortin2 inhibe procesos fisiológicos relacionados con la señalización de la hormona vegetal auxina. Además hemos encontrado que Sortin2 inhibe la actividad transcripcional gatillada por auxina. El primer paso en la señalización de las auxinas es su transporte a la célula mediado por proteínas transportadoras en la membrana celular. Concordantemente, nuestros resultados muestran que este compuesto afecta mecanismos moleculares relacionados con la ruta endocítica de los transportadores de auxina a nivel celular, lo que podría explicar los efectos que produce en la planta. Sortin2 afecta el sistema de endomembranas de *A. thaliana* de una manera distinta otros compuestos descritos lo que sugiere blancos moleculares distintos. Utilizando una estrategia genética, hemos identificado seis posibles blancos moleculares de Sortin2 en *S. cerevisiae*, dentro de los cuales tres corresponden a proteínas relacionadas con procesos de endocitosis. Financiamiento FONDECYT 11080240.

CAMBIOS EN EXPRESION GENICA INDUCIDOS POR INFECCIONES VIRALES AFECTAN LA MADURACION Y LA SÍNTESIS DE ANTOCIANOS EN BAYAS DE *Vitis vinifera* (Changes in gene expression induced by viral infections affects ripening and anthocyanin biosynthesis in grape berries) **Vega, A.**¹, **Arce-Johnson, P.**¹ Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Los virus causan enfermedades crónicas en vides, sin que se hayan descrito reacciones de resistencia. Estas infecciones generan una disminución en el crecimiento, deformación de hojas y alteraciones en la calidad de los frutos, entre otros. Los síntomas que causan los virus han sido previamente descritos pero se desconocen los procesos fisiológicos involucrados, especialmente su efecto en el desarrollo del fruto. El objetivo de este trabajo es estudiar cambios moleculares que ocurren en los frutos de *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon por la infección con GLRaV3. Se realizó un análisis de la expresión genica global en frutos provenientes de plantas sanas e infectadas mediante el microarreglo de Affymetrix en dos estados de maduración. Se identificaron 116 genes en el estado de pinta (inicio de maduración) y 906 genes en baya madura con expresión diferencial entre los frutos de plantas sanas e infectadas, lo que se relaciona con una maduración irregular en estos últimos. El análisis funcional de estos genes indica que el metabolismo y la biosíntesis de metabolitos secundarios, especialmente de antocianos, se encuentran reprimidos por la infección. Adicionalmente, se analizó la expresión de los genes que codifican para las enzimas estructurales de la vía fenilpropanoide y genes reguladores que controlan su transcripción mediante qRT-PCR, como también la concentración de los metabolitos de esta vía durante el desarrollo del fruto. Se encontró una correlación entre los cambios de expresión génica y los metabolitos afectados por el virus. Agradecimientos: CONICYT, 07GENOMA01.

ANÁLISIS TRANSCRIPCIONAL DE GENES ASOCIADOS A LA DEGRADACIÓN DE PARED CELULAR DURANTE LA MADURACIÓN DE FRUTOS DE *Fragaria chiloensis* (Transcriptional analysis of cell wall degrading genes during *Fragaria chiloensis* fruit ripening) **Figueroa, C.R.**¹, **Pimentel, P.**¹, **Dotto, M.C.**², **Martínez, G.A.**², **Civello, P.M.**², **Herrera, R.**¹, **Moya-León, M.A.**¹ IBVB, Universidad de Talca¹. IIB-INTECH, Argentina².

Los procesos de despolimerización y solubilización de pectinas y hemicelulosas ocurren en muchos frutos carnosos. El objetivo de la presente investigación fue establecer una aproximación al estudio de la degradación de pared en *F. chiloensis* durante la maduración del fruto. Los análisis se realizaron en cuatro estadios de desarrollo: verde pequeño (VP), verde grande (VG), transición (T) y maduro (M). Se determinó la expresión de 10 genes relacionados a la degradación de pared celular en frutilla. La pérdida de firmeza de frutos de *F. chiloensis* entre VG y T es concordante con la reducción en el contenido de pectinas covalentes y con un aumento considerable en los niveles de expresión de poligalacturonasa (PG). No se aprecian cambios importantes en la despolimerización de hemicelulosas, sin embargo se observa un notorio nivel de expresión de endoglucanasa (EGasa) en estadio VG de *F. chiloensis*. Los genes *FaEXP1*, *FaEXP2* y *FaEXP5* exhiben un aumento en su expresión a medida que avanza la maduración en ambas especies, siendo ésta reprimida por auxina. Los genes que más se relacionan con el grado de ablandamiento en *F. chiloensis* son PG, EGasa y *FaEXP5*. Agradecimientos: Proyecto PBCT Anillo de Ciencia y Tecnología (ACT-41), Proyecto de Cooperación Internacional CONICYT/SECYT, MECESUP, Fundación Andes (C-13855/12).

EFFECTO DEL COBRE Y HIERRO SOBRE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LAS OXIDASAS MULTICOBRE DEL HONGO BASIDIOMICETE *Phanerochaete chrysosporium* (Effects of copper and iron on the expression and enzymatic activity of the multicopper oxidases from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*) **Canessa, P.**¹, **Vicuña, R.**¹. Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Phanerochaete chrysosporium es un hongo que degrada lignina, para lo cual secreta al extracelular diversas enzimas oxidativas. Una de las enzimas involucradas en la ligninólisis es una fenol oxidasa (lacasa), proteína perteneciente a la familia de las oxidasas multicobre (MCO). Aunque la base de datos del genoma de *P. chrysosporium* reveló 5 secuencias que codifican para MCO, ninguna codifica para una lacasa. Cuatro de estos genes están agrupados y se denominan de *mco1* a *mco4*. El quinto gen (*fet3*), codifica para una ferroxidasa convencional de membrana. Mediante análisis bioquímicos, estructurales y filogenéticos se demostró que MCO1 es una ferroxidasa extracelular con nula actividad fenol oxidasa, que dio origen a una nueva rama de la familia de las MCO. En este trabajo determinamos los niveles de transcrito de los genes que codifican para estas MCO en cultivos suplementados con cobre o hierro. El cobre produce solo un aumento en los niveles de transcrito de *mco1* y *mco2*, mientras que el hierro produce una disminución en los niveles de transcrito de *mco1*, *mco2* y *mco4*. Adicionalmente, se validó un sitio de regulación transcripcional para cobre en el promotor de *mco1*, junto con su proteína reguladora. Mediante mutación sitio dirigida y expresión heteróloga de MCO1, se estudió su actividad enzimática. Los resultados permitieron concluir que el ácido glutámico 214 es un residuo clave que participa tanto en la oxidación de hierro, como en la actividad fenol oxidasa dependiente de hierro. FONDECYT 1070588.

EVOLUCIÓN DE LA ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO EN LA FAMILIA DE QUINASAS DEPENDIENTES DE ADP. EL PROBLEMA DE LA ENZIMA BIFUNCIONAL. (Substrate specificity evolution of the ADP-dependent sugar kinase family. The problem of the bifunctional enzyme) **Merino, F.**¹, Caniuguir, A.¹, Yakunin, A.², Guixé, V.¹ Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹. Midwest Center for Structural Genomics, Toronto, Ontario, Canada².

En algunas arqueas pertenecientes al grupo *Euryarchaeota* la degradación de glucosa es realizada por una versión modificada de la vía de Embden-Meyerhof. Aquí, la fosforilación de glucosa y fructosa-6-fosfato es realizada por quinasas dependientes de ADP, homólogas entre sí. En la arquea *Methanocaldococcus jannaschii* sólo existe un homólogo de ellas, capaz de realizar ambas funciones, por lo que ha sido propuesta forma ancestral en la familia. En este trabajo se estudió la evolución de especificidades por azúcares en esta familia utilizando el método bayesiano de inferencia filogenética así como los determinantes estructurales de la especificidad mediante el método de traza evolutiva y *docking* proteína-ligando. Los resultados muestran que la raíz de esta familia está dentro del grupo de las glucoquinasas por lo que la enzima bifuncional no es una forma ancestral. Los cálculos de *docking* y traza evolutiva sugieren que la especificidad por fructosa-6-fosfato se relaciona con la capacidad de estabilizar su carga negativa en la proteína, mientras que la especificidad por glucosa está relacionada con la interacción de un glutamato con este azúcar (E82 en la enzima bifuncional). Para probar esto, se realizó mutagénesis en la fosfofructoquinasa de *Pyrococcus horikishii*. Los resultados muestran que la remoción de los residuos positivos del sitio de unión disminuye la afinidad por fructosa-6-fosfato, sin generar la función glucoquinasa. En contraste, la introducción de un glutamato en la posición equivalente al E82 de la enzima bifuncional genera una enzima glucoquinasa/fosfofructoquinasa. FONDECYT 1070111.

EVENTOS DE FISIÓN Y FUSIÓN CONTROLAN LA SEGREGACIÓN DE LAS MITOCONDRIAS Y SU ELIMINACIÓN VÍA AUTOFAGIA (Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy) **Elorza, A.**¹, Twig, G.², Molina, A.³, Mohamed, H.², Wikstrom, J.³, Walzer, G.⁴, Stiles, L.², Haigh, S.³, Katz, S.², Las, G.³, Alroy, J.², Wu, M.⁵, Py, B.⁶, Yuan, J.⁶, Deeney, J.³, Corkey, B.³, Shirihai, O.^{2,3} Universidad Andrés Bello¹. Tufts University². Boston University³. MIT⁴. Seahorse Bioscience Inc⁵. Harvard Medical School⁶. Patrocinante: Polanco, R.

La acumulación de mitocondrias despolarizadas en células beta del páncreas ha sido relacionada con estrés oxidativo y diabetes. Para entender el origen y destino de estas mitocondrias disfuncionales, se fotomarcaron unidades individuales las que fueron monitoreadas a través de sus eventos de fisión y fusión. Se encontró que las mitocondrias realizaron ciclos frecuentes de fisión y fusión tipo kiss and run, y que la fisión muchas veces genera unidades hijas heterogéneas, es decir, una con mayor potencial de membrana (PM) y alta probabilidad de una subsiguiente fusión; y la otra, un menor PM y baja probabilidad de volverse a fusionar. Así, estos eventos generaron una subpoblación de mitocondrias incapaces de fusionarse y con niveles reducidos de la proteína de fusión OPA1. Al inhibir la maquinaria de fisión mediante DRP1K38A o FIS1 siRNA, la autofagia mitocondrial disminuyó y trajo como consecuencia una acumulación inusual de proteínas mitocondriales oxidadas, una baja tasa respiratoria y una deficiente secreción de insulina. Experimentos de pulso y caza y posterior detención de la autofagia en el estado de pre-proteólisis reveló que, previo a la autofagia, las mitocondrias habían perdido su PM y también OPA1. Asimismo, la sobreexpresión de OPA1 disminuyó la autofagia mitocondrial. En conjunto estos descubrimientos sugieren que los eventos de fisión seguidos por una fusión selectiva, segregan a las mitocondrias disfuncionales y favorecen su remoción por autofagia, lo que se constituiría en un mecanismo de control de calidad mitocondrial.

EFFECTO DE ETOH SOBRE LA PROTEÍNA hG α s (ETOH effect on the hG α s protein) **Romo, X.**¹, Zepeda, P.², Quiñones, K.², Vidal, P.², Aguayo, L.². Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello¹. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción².

El etanol potencia las corrientes glicinérgicas a nivel del sistema nervioso central, y se ha demostrado que este efecto es mediado por la acción de la subunidad G α de la proteína G. Sin embargo, existen evidencias acerca de aumento en los niveles de AMPc intracelulares en células incubadas con ETOH, y estudios han mostrado que la expresión de una mutante constitutivamente activa de G α s (G α sQL) incrementa la sensibilidad a 100mM etanol de la corriente activada por glicina, sugiriendo la participación directa de G α s en los efectos de etanol en canales iónicos. Con el objetivo de analizar el rol del AMPc en el aumento de la sensibilidad a etanol de la subunidad β 1 del receptor de glicina humano, analizamos y comprobamos que la sobre expresión del receptor β 2 adrenérgico y su subsiguiente estimulación con isoproterenol produjo niveles de AMPc similares a los producidos por G α s QL, sin embargo, bajo estas condiciones, la sensibilidad del receptor de glicina a 100mM de ETOH no fue afectada. Además, nosotros demostramos que ETOH aumenta el intercambio de GTP γ S en G α s utilizando membranas de cerebro de rata y G α s recombinante, indicando que ETOH es capaz de activar a la proteína G α s. Estos resultados sugieren que el aumento del nivel de AMPc no estaría relacionado al mecanismo por el cual modula los efectos de etanol en receptores de glicina, y que ETOH es capaz de activar a la proteína G α s. FONDECYT 11080174.

COMUNICACIONES LIBRES ORALES

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS

DETERMINACIÓN DE LAS VÍAS PREFERENCIALES DE TRANSFERENCIA DE LUZ EN R-FICOERITRINA DE *Gracilaria chilensis* (Determination of preferential pathways for light conduction in R-phycoerythrin from *Gracilaria chilensis*) **Sepúlveda-Ugarte, J.¹**, Figueroa, M.¹, Martínez-Oyanedel, J.¹, Bunster, M.¹. Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

Los Ficobilisomas son complejos accesorios de captación de luz presentes en cianobacterias, algas rojas y criofitas. Estos complejos captan y transfieren luz hacia los fotosistemas con una altísima eficiencia, superior al 95%. Esta eficiencia se debe a la presencia de cromóforos, tetrapirroles lineales, unidos covalentemente a residuos de cisteína de los componentes proteicos del complejo. Los Ficobilisomas se componen de tres ficobiliproteínas: R-Ficoeritrina, Ficocianina y Aloficocianina, además de proteínas Linkers. La transferencia de energía entre los cromóforos presentes dentro del complejo se describe mediante FRET (fluorescence resonance energy transfer), el cual considera parámetros espectroscópicos y estructurales de los pares de cromóforos interaccionantes. Para R-Ficoeritrina, se han descrito los parámetros estructurales de sus cromóforos, pero los espectroscópicos aun son desconocidos. Esta proteína está formada por dos subunidades, α y β y presenta como cromóforos dos ficoeritobilinas por subunidad junto a una ficourobilina en la subunidad β . En este trabajo, se aisló R-Ficoeritrina de *Gracilaria chilensis*, sus subunidades y cromopeptidos, que posteriormente fueron caracterizados, determinando los parámetros espectroscópicos de ficoeritobilina y ficourobilina. Estos parámetros obtenidos nos permitieron calcular las constantes de transferencia de energía entre los distintos pares de cromóforos que describen las vías preferenciales de transferencia de luz presentes en un modelo de dos hexámeros de R-Ficoeritrina. Financiamiento Fondecyt 108.0267.

ANÁLISIS ESTRUCTURAL DEL PROCESO DE OLIGOMERIZACIÓN EN ARGINASA DE HÍGADO HUMANA (Structural analysis of oligomerization process in Human Liver Arginase) **Jaña-Pérez, N.¹**, Carvajal, N.², Martínez-Oyanedel, J.¹ Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹. Laboratorio de Enzimología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción².

La Arginasa de hígado humano (HLAI) es un homo-trímero que posee un motivo estructural en forma de S, asociado al proceso de oligomerización de esta enzima, el cual corresponde a los últimos 19 residuos del extremo C-terminal, contribuyendo con el 54% del área de interacción entre las subunidades de la HLAI. Diversos estudios han concluido que este motivo desempeña un rol en la expresión de efectos cooperativos para el sustrato, y que el residuo Arg308 es esencial en el proceso de oligomerización de la arginasa. Caracterizamos estructuralmente este motivo en HLAI y sus mutantes: R308A, 309del y R308A-309del, desarrollando un enfoque bioinformático para generar un modelo del proceso de oligomerización de la HLAI, basado en dinámicas moleculares NPT aplicadas a templados de trímeros. Incluyendo en este análisis la comparación de los potenciales electrostáticos. El modelo bioinformático, entregó una visión del proceso de oligomerización validada por datos experimentales, indicando que la mutación R308A provoca un drástico cambio en el potencial electrostático principalmente del residuo Arg255 perteneciente al núcleo de oligomerización, en su estructura vemos que el grupo guanidino de Arg255 interactúa de la misma forma que el grupo guanidino de la Arg308, quedando la Arg255 inhabilitada para realizar contactos inter-monomeros, interrumpiéndose la oligomerización. Concordamos en que la Arg308 tiene un rol crucial en la oligomerización, pero además aportamos que la Arg255 participa relevantemente en la formación del trímero en HLAI.

POLIMERIZACIÓN *in vitro* DE LA TUBULINA BACTERIANA BtubA/B (<*In vitro* polymerization of the bacterial tubulin BtubA/B) **Díaz Celis, C.D.¹**, Risca, V.², Hansen, S.³, Hurtado, F.⁴, Monasterio, O.⁴ Programa de Doctorado en Microbiología, Universidad de Santiago¹. Universidad de California, Berkeley². Universidad de California, San Francisco³. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile⁴.

La secuenciación del genoma de la bacteria *Prostheco bacter dejongeii* reveló la presencia de dos nuevas secuencias de tubulina (*btubA* y *btubB*). *BtubA* y *BtubB* comparten una mayor identidad de secuencia con el heterodímero α / β -tubulina eucariote que con FtsZ, el homólogo de la tubulina presente en bacterias y arqueas. Se postula que la tubulina bacteriana *BtubA/B* fue adquirida por transferencia genética horizontal desde un eucariote. En este trabajo se caracterizó por precipitación a alta velocidad, microscopía electrónica y microscopía confocal, la polimerización de *BtubA/B*. Se vio que la polimerización es estimulada por potasio y que a altas concentraciones de la sal, los filamentos tienden a agruparse y formar manojos que no son microtubulos. El polímero de *BtubA/B* es polar, y la dinámica de polimerización y despolimerización está regulada por la hidrólisis de GTP, lo que refuerza la hipótesis de que esta proteína fue transferida desde un eucariote a la bacteria. Trabajo financiado por Conicyt y Fondecyt.

INTERACCIONES COULÓMBICAS EN EL SITIO ACTIVO DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA DE *Saccharomyces cerevisiae* ¿RELEVANTES PARA LA UNIÓN DE Mn^{2+} ? (Coulombic interactions at the active site of *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase. Are they relevant for Mn^{2+} binding?) **Sepúlveda, C.¹**, Cardemil, E.¹. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de *S. cerevisiae* cataliza la reacción de descarboxilación y fosforilación de oxaloacetato en presencia de Mn^{2+} y ATP, generando fosfoenolpiruvato, CO_2 , y ADP. La enzima cataliza además dos reacciones minoritarias: descarboxilación de oxaloacetato y una reacción tipo quinasa pirúvica. El modelo por homología para esta enzima, muestra que Mn^{2+} se une al sitio 1 a través de tres residuos aminoácidos, uno de ellos corresponde a Lis213, cuyo grupo -amino aporta el par electrónico para formar el enlace de coordinación. Esto apunta a un bajo pK_a para este grupo, seguramente como consecuencia de las interacciones ocurridas en el microentorno. El modelo sugiere que el amonio de Lis212, a 5,3 Å de Lis213, promueve un estado neutro sobre este último. Para evaluar la relevancia de Lis212 en la mantención del estado desprotonado de Lis213, reemplazamos Lis212 por metionina, eliminando así la carga positiva en esa posición. La mutación provocó un aumento en la constante de activación por Mn^{2+} en las tres reacciones que la enzima cataliza. Por otro lado k_{cat} disminuyó notablemente en la reacción principal, con poco efecto en las reacciones secundarias. La mutación causó además un aumento en la K_m para complejo enzima-ADPMn. Los resultados en su conjunto muestran que la eliminación del grupo amonio en la posición 212 altera la afinidad de la enzima por Mn^{2+} , probablemente debido a un aumento de carga positiva sobre Lis213. Financiamiento: FONDECYT 1070202 y beca doctoral de CONICYT.

ESTUDIOS DE UNIÓN A DNA DEL DOMINIO N-TERMINAL DE LA INTEGRASA DEL VIRUS DE LA LEUCEMIA MURINA DE MOLONEY (DNA binding studies of the isolated N-terminal domain of Moloney murine leukemia virus integrase) **Vargas, D.¹**, Henriquez, D.¹, León, O.¹ Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹.

La integración del DNA viral en el genoma celular es esencial en el ciclo replicativo de los retrovirus y es catalizada por la integrasa (IN). Esta enzima reconoce y procesa los extremos LTR (*Long terminal repeats*) del DNA viral. Posee tres dominios funcionales: carboxilo terminal (C-terminal) que une DNA, dominio central catalítico, y dominio amino terminal (N-terminal) caracterizado por un motivo HisHis/CysCys que coordina zinc formando un dominio tipo dedo de zinc. El dominio N-terminal aislado de la IN del virus de leucemia murina de Moloney (M-MuLV) es capaz de complementar en *trans* al dominio central catalítico y C-terminal para realizar la actividad catalítica. Se ha propuesto, que este dominio estaría involucrado en interacciones proteína-proteína durante el proceso de multimerización, o que participaría en la unión al DNA blanco o en el reconocimiento de los LTRs del DNA viral, pero no ha sido demostrado. En este trabajo se analizó la interacción entre el dominio N-terminal aislado de la IN de M-MuLV (IN 1-105) y DNA del LTR viral. Mediante anisotropía de fluorescencia, utilizando un oligonucleótido conjugado con 5-carboxifluoresceína, o bien, utilizando el dominio N-terminal modificado con una sonda fluorescente (Alexa-Fluor 488), se determinó que el dominio N-terminal aislado de la IN de M-MuLV no une DNA. Sin embargo, este dominio se asocia con la IN 106-404 que posee los dominios central y C-terminal. Este resultado sugiere que el dominio N-terminal es importante en la formación del complejo de integración.

IDENTIFICACIÓN DE RESIDUOS ESENCIALES PARA LA ACTIVIDAD FUSOGÉNICA DE LA PROTEÍNA Gc DEL VIRUS ANDES (Identification of essential residues for the Andes virus Gc fusion activity) **Cifuentes-Muñoz, N.¹**, Barriga, G.¹, Darlix, J.², Valenzuela, P.D.^{1,3}, Tischler, N.D.¹. Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio MIFAB, Santiago, Chile¹, LABORETRO, INSERM 758 ENS-Lyon, Francia², Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile³.

El género *Hantavirus* abarca múltiples patógenos humanos distribuidos ampliamente en el mundo causando síndromes hemorrágicos severos, incluyendo el virus Andes (ANDV) que produce en Chile tasas de mortalidad del 40%. Al inicio del ciclo infeccioso, el virus fusiona su membrana de envoltura con la membrana celular para liberar las ribonucleoproteínas al citoplasma e iniciar el proceso de replicación de su genoma. Experimentos *in vitro* realizados en nuestro laboratorio demostraron la interacción entre péptidos de la proteína de envoltura Gc de ANDV y membranas artificiales, lo que junto con análisis bioinformáticos sugirieron que Gc corresponde a la proteína fusogénica del virus (Tischler y colab., 2005). En el presente trabajo, se caracterizaron residuos claves en la actividad fusogénica de la proteína Gc de ANDV. Para esto, varias mutantes de Gc fueron construidas mediante mutagénesis sitio-dirigida y sus actividades fusogénicas analizadas en un ensayo de fusión que involucra la fusión de membranas plasmáticas entre células Vero E6. Además se analizó la infectividad de vectores lentivirales pseudotipificadas con Gc silvestre o las diferentes mutantes. Las mutaciones introducidas dentro de la región del péptido de fusión de Gc (sitio activo) mantuvieron o suprimieron la actividad fusogénica de la proteína sin afectar su acumulación en membrana plasmática. Dichos resultados confirman el rol de Gc en el proceso de fusión virus:célula. La importancia de los residuos esenciales en la entrada viral es discutida. Financiamiento: Proyectos FONDECYT 11060231, CONICYT PFB-16, UNAB DI- 05-08/1 y Beca MECESUP UAB0602.

ESTUDIO A TRAVÉS DE MUTANTES DE DELECCIÓN PARA DETERMINAR LA REGIÓN CON ACTIVIDAD GEF DE xRIC-8 BASADO EN UN MODELO TRIDIMENSIONAL (Studies through deletion mutants to determinate the region with GEF activity of xRIC-8 based in a 3D model) **Figueroa, M.¹**, Hinrichs, M.V.¹, Martínez-Oyanedel, J.¹, Olate, J.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

RIC-8 es una proteína citosólica de 63 Kda, conservada desde *C. elegans* a humano. Posee actividad GEF (del inglés Guanine nucleotide Exchange Factor) para proteínas G heterotrímicas, y se ha observado su participación en la liberación de neurotransmisores, así como también en el desarrollo embrionario, específicamente en división celular asimétrica. A pesar de estar reportada esta actividad GEF, se desconoce que región de la proteína es la que estaría dando cuenta de dicha actividad. Por estudios previos en los cuales determinamos un modelo tridimensional creado para RIC-8 de *Xenopus laevis* (xRIC-8), el cual es validado por estudios espectroscópicos (prot Sci. 18:1139,2009, Microbiología), hemos establecido que xRIC-8 esta compuesta de 10 dominios armadillo. Basados en esto y observando la alta conservación entre RIC-8 de diferentes especies en su extremo carboxilo terminal, diseñamos mutantes de delección en esta región con el objeto de perder la función GEF de xRIC-8 sobre G α s. Para ello se eliminaron las regiones más conservadas en estas proteínas, que corresponden a los dominios armadillos 8, 9 y 10, de acuerdo a nuestro modelo tridimensional. Sorprendentemente, al estudiar la actividad GEF de estas mutantes de delección hemos observado que la actividad GEF se mantiene, indicando que la región que posee actividad GEF estaría localizada hacia el extremo amino de la proteína y así la región altamente conservada analizada de la proteína xRIC-8 no participaría en esta función. Proyecto Anillo ACT-44 Proyecto Fondecyt 1090150.

MICROBIOLOGÍA

ROL DE LA PORINA OMPD DE *Salmonella enterica serovar Typhimurium* FRENTE A COMPUESTOS OXIDANTES Y MODULACIÓN DE SU EXPRESIÓN EN CONDICIONES DE ESTRÉS OXIDATIVO. (Role of the *Salmonella enterica serovar Typhimurium* OmpD porin with oxidative compounds and expression modulation in stress oxidative conditions.) **Caro, N.J.¹**, Calderón, I.L.¹, Collao, B.G.¹, Ortega, A.P.¹, Chahuán, C.A.¹, Saavedra, C.P.¹, Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

Salmonella enterica serovar Typhimurium (STm) es el agente etiológico de gastroenteritis, bacteremias y fiebre entérica. En un proceso infeccioso la bacteria al ser fagocitada por el macrófago es atacada por especies tales como peróxido de hidrógeno y anión hipoclorito. Estos compuestos son capaces de oxidar membranas, así como también ácidos nucleicos y proteínas citoplasmáticas una vez que ingresan a la bacteria. La difusión al interior del patógeno sería facilitada por la presencia de porinas, proteínas integrales de membrana externa encargadas de transportar nutrientes y solutos hidrofílicos en general. En este contexto, frente a condiciones de estrés oxidativo la regulación negativa de la expresión de de porinas específicas podría representar un mecanismo adaptativo de la bacteria. Mediante análisis *in vivo* con sondas específicas demostramos en este estudio que OmpD, una de las porinas más abundantes de la membrana externa de STm, contribuye al ingreso de peróxido e hipoclorito. Los análisis de las áreas de inhibición del crecimiento con cepas silvestres y cepas mutantes para el gen *ompD*, indican que la bacteria es más resistente a peróxido e hipoclorito cuando carece de la porina. En este sentido, los experimentos con la fusión transcripcional del promotor de *ompD* y con la fusión traduccional, evidencian una regulación negativa de su expresión cuando la bacteria es crecida frente a peróxido e hipoclorito, argumentando a favor de la existencia de un mecanismo adaptativo. Financiado por FONDECYT 1085131 y DI 5009/R.

VIROLOGÍA

ELEMENTOS *cis*-PRESENTES EN EL mRNA DE HIV-1 REGULAN LA ACTIVIDAD DEL IRES VIRAL (*cis*-elements in the HIV-1 genome modulate viral IRES activity) **Valiente-Echeverría, F.¹**, Rivero-Jiménez, M.¹, Vallejos, M.¹, Pino, K.¹, Rodríguez, F.², García-Huidobro, J.P.², López-Lastra, M.¹ Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, PUC¹. Departamento de Fisiología, Centro de Regulación Celular y Patología J.V. Luco, Instituto MIFAB, PUC².

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 un estructura 5' Cap, una cola 3' poly(A) y en su región 5' no traducida (UTR) una estructura IRES. Mediante ensayos de microinyección en oocitos de *Xenopus laevis* de mRNAs bicistronicos pudimos establecer que la cola poli(A) es necesaria para la actividad del IRES-1 de HIV-1. Demostramos además que la estructura 5' Cap inhibe la traducción mediada por el IRES. Mas aun, mediante ensayos de traducción in vitro y ex vivo generamos resultados que sugieren que en la región codificante de Gag existen elementos *cis*-reguladores capaces de inhibir la actividad traduccional del IRES de HIV-1. Fondecyt Proyecto 1090318; MLL pertenece al núcleo milenio NMII. FVE y MV Becarios CONICYT.

TRADUCCIÓN DEL mRNA DEL SEGMENTO S DEL VIRUS ANDES Y BUNYAMWERA: ROL DEL CONTEXTO AUG Y LAS PROTEÍNAS N Y NSS (Translation of S segment mRNA from Andes and Bunyamwera Virus: Role of the AUG context; Role of the N and Nss proteins) **Vera-Otárola, J.¹**, Lopez-Lastra, M.¹ Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Los virus miembros de la familia *Bunyaviridae* poseen un genoma tripartito (S, M y L). El mRNA del segmento S (mRNA S), el cual posee estructura cap y no posee cola poly(A), es utilizado en algunos géneros como templado para la síntesis de dos proteínas virales, N y NSs. Estas proteínas se sintetizan a partir del mismo mRNA utilizando dos codones de inicio diferentes. El contexto de los AUGs virales no es el óptimo para la traducción en eucariontes. Con el objetivo de determinar el rol del contexto nucleotídico de los AUGs y de las proteínas N y NSs en la traducción del mRNA S del virus Andes (Hantavirus) y del virus *Bunyamwera* (Bunyavirus), se generaron diversas mutantes modificando el contexto de ambos AUGs. Los resultados generados mediante experimentos in vitro y ex vivo, sugieren que a pesar del contexto poco favorable ambos AUGs son reconocidos eficientemente por la maquinaria de síntesis de proteína. Además, muestran que la proteína N, de ambos virus, estimulan el reconocimiento de su propio AUG. Sin embargo, la proteína NSs de Andes demostró ser un inhibidor de la traducción global. Al mismo tiempo, examinamos la función de la región 3'UTR del mRNA S observando que esta estimula la traducción del mRNA sin afectar la estabilidad del mismo, actuando sinérgicamente con la estructura cap y de manera similar a la de una cola poly(A). Núcleo Milenio Inmunología e Inmunoterapia (NMII). J.V-O Becario MECESUP-USACH.

ENZIMOLOGÍA

ANÁLISIS DE DETERMINANTES ESTRUCTURALES DE LA PIRIDOXAL QUINASA HUMANA MEDIANTE ESTUDIOS CINÉTICOS Y BIOINFORMÁTICOS. (Analysis of human pyridoxal kinase structural determinants through kinetic and bioinformatic studies.) **Ramírez, C.¹**, Cabrera, R.¹, Guixé, V.¹. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

La piridoxal quinasa humana (hPLK) pertenece a la superfamilia riboquinasa y cataliza la fosforilación ATP-dependiente de vitamina B6. Las estructuras resueltas sugieren que el residuo Asp113 participa en la coordinación del catión divalente del complejo metal-nucleótido. Además, en base a cristalizaciones con analogos de sustratos, se ha propuesto que el loop de 12 residuos ubicado sobre el sitio activo cumple un rol importante en la protección de sustratos frente a hidrólisis abortiva e induce un cambio conformacional. Mediante estudios cinéticos, hemos determinado que la enzima silvestre es inhibida fuertemente por concentraciones de zinc libre ($IC_{50} = 75 \pm 7 \mu M$), mientras que mutaciones sitio-específicas de Asp113 por asparagina y valina producen una atenuación ($IC_{50} = 764 \pm 131 \mu M$) y ausencia de este comportamiento, respectivamente. Además, la mutante D113V exhibe una disminución del 50% sobre la velocidad máxima observada para la enzima silvestre. Por otra parte, la eliminación sistemática de 3 y 5 residuos del loop revierte este comportamiento, alcanzándose la máxima actividad a 300 μM de zinc libre. La eliminación de 5 residuos produce una enzima que posee una velocidad máxima hasta 2 veces mayor que la de la variante silvestre. Finalmente, dinámicas moleculares de perturbación de energía libre demuestran que el cambio aspartico-valina desfavorece la coordinación del complejo metal-nucleótido en aproximadamente 6 Kcal/mol. Estos resultados indican la importancia de ambos determinantes estructurales en la inhibición por zinc libre y no en la protección de sustratos. FONDECYT 1070111.

EFFECTOS DE LA REMOCIÓN DE LA SECUENCIA TIPO LIM EN LA AGMATINASA DE CEREBRO DE RATA (Effects of removal of a LIM-type sequence from rat brain agmatinase) **Castro, V.H.¹**, Fuentealba, J.P.¹, Benítez, J.R.¹, Carvajal, N.¹, Uribe, E.A.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

La agmatina resulta de la descarboxilación de la L-arginina y es degradada a putrescina y urea por una agmatinasa, a esta amina se le asocia una serie de acciones neuromoduladoras ya que tiene efectos anticonvulsivos, antineuróticos y antidepresivos en animales. En nuestro laboratorio, clonamos una proteína de cerebro de rata, activa como agmatinasa y con sólo un 12% de identidad de secuencia con la agmatinasa de *E. coli*, la agmatinasa mejor caracterizada. Aunque requiere Mn^{2+} para su actividad catalítica, en la secuencia de esta proteína no se conservan los residuos descritos para unir iones metálicos en las proteínas de la familia de las ureohidrolasas (que incluye arginasas y agmatinasas). Sin embargo, presenta una secuencia tipo LIM de unión a metales, ausente en esta familia de proteínas. Para analizar la función de esta secuencia, generamos una agmatinasa recombinante de cerebro de rata trunca en esta zona. La proteína truncada mantuvo la dependencia de iones metálicos, demostrando que los metales que se le asociarían no tienen funciones catalíticas. Además, mantuvo su estructura dimerica, lo que descarta una función de la secuencia en la asociación de los monómeros. Sin embargo, la enzima trunca presentó un valor de K_m tres veces menor y una k_{cat} diez veces mayor. Sugerimos que la secuencia LIM forma parte de un dominio regulatorio de la actividad de la agmatinasa cerebral. Su acción inhibitoria podría explicar los niveles extremadamente bajos de actividad agmatinasa detectados en cerebro. FONDECYT 11070069.

CONSECUENCIAS ESTRUCTURALES Y CINÉTICAS DEL REEMPLAZO MUTAGÉNICO DE LOS RESIDUOS ASP205 Y GLU256 EN LA ARGINASA HUMANA TIPO I (Structural and kinetic consequences of mutagenic substitutions of Asp205 and Glu256 in human arginase type I) **Lobos, M.**¹, Uribe, E.A.¹, Carvajal, N.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

La arginasa cataliza la hidrólisis de la L-arginina en L-ornitina y urea y requiere de Mn²⁺ para su acción catalítica. Aparte de la síntesis de urea, regula los niveles intracelulares de arginina y, compitiendo con las óxido nítrico sintasas, regula los niveles de NO. Recientemente, sugerimos que un motivo C-terminal en forma de S, ubicado en la interface entre los monómeros de las arginasas de mamíferos, es esencial para la cooperatividad a pH 7,5. En este motivo se destaca la Arg-308, que interacciona con el Asp204 de la subunidad vecina. Por otro lado, se ha sugerido que Glu256 (que no forma parte del motivo) también sería un determinante estructural de la oligomerización. En este trabajo, analizamos las consecuencias estructurales y cinéticas de mutaciones en Asp204 y Glu256, generando las variantes D204A, D204E, D204N, E256Q, E256A y E256D de arginasa humana tipo I. Las mutaciones generaron especies monoméricas (D204A y E256Q) y triméricas (D204E, D204N y E256A), sin variaciones en las fluorescencia de triptófanos ni en los parámetros cinéticos al pH óptimo (9,5). Las especies triméricas fueron, sin embargo, funcionalmente diferenciables a pH 7,5. En efecto, D204E presentó cooperatividad para el sustrato, mientras que D204N y E256A mostraron un comportamiento hiperbólico. Los resultados obtenidos apoyan nuestra sugerencia previa acerca del motivo en forma de S e indican que Glu256, más que determinante de oligomerización, es esencial para la expresión de cooperatividad para el sustrato a pH 7,5. Proyecto Fondecyt 1070467.

INHIBIDORES DE HISTONAS DESACETILASAS RETARDAN LA GERMINACIÓN EN *Arabidopsis thaliana* (Deacetylases inhibitors delay seed germination in *Arabidopsis thaliana*) **Obrecht, A.**¹, Paneque, M.¹. Laboratorio de Biotecnología y Bioenergía. Dpto. de Cs. Ambientales y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile¹. **Patrocinante:** Martínez Oyanedel, J.

La dormancia, germinación y las primeras etapas del crecimiento de las plántulas, están asociadas con cambios en la expresión génica y el patrón de expresión de proteínas, dependientes de las condiciones ambientales. Los inhibidores de histonas desacetilasas (HDACs) se encuentran clasificados en categorías basados en sus estructuras químicas. Se piensa que cada inhibidor actúa sobre una HDACs en específico, lo cual tiene un efecto sobre la expresión genética, la regulación del ciclo celular, la proliferación, la diferenciación, y la apoptosis. Sir2 es una HDACs dependiente de NAD⁺ y su producto de hidrólisis, nicotinamida, actúa como inhibidor *in vitro* de enzimas que degradan NAD⁺, y es un regulador *in vivo* de la actividad de Sir2 en levadura. En este trabajo nosotros hemos identificado el homólogo de Sir2 en planta y estudiamos el efecto de moléculas que modifican la actividad Sir2 y su relación con la regulación de la germinación de semillas de *A. thaliana*. Aquí reportamos que la proteína SIR2 de *Arabidopsis* se localiza en núcleo y que los inhibidores de desacetilasas retardan la germinación de *A. thaliana* a concentraciones bajo aquellas conocidas para inhibir el desarrollo temprano en plántulas. La inhibición actúa en el desarrollo embrionario y puede ser dirigida principalmente por Sir2. Se ensayaron diversas hormonas (ácido abscísico, brasinolide, geberelina y etileno) e inhibidores de HDACs, para entender la ruta de transducción de la señal de retraso de la germinación inducida por nicotinamida. Financiamiento: Fondecyt 11070234.

GONST4, EL PRIMER TRANSPORTADOR DE NUCLEOTIDO-AZÚCAR DE *Arabidopsis thaliana* CAPAZ DE IMPORTAR GDP-L-FUCOSA Y GDP-L-GALACTOSA (GONST4, a nucleotide sugar transporter from *Arabidopsis thaliana* transports GDP-L-fucose and GDP-L-galactose) **Miranda, J.P.**¹, Ampuero, D.¹, Huichalaf, M.¹, Handford, M.¹ Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

Para la síntesis y/o modificación de glicoconjugados en el lumen del aparato de Golgi, se requiere la presencia de transportadores de nucleotido-azúcares (TNAs) específicos, que importen los nucleotido-azúcares citosólicos. Utilizando una aproximación de genética reversa y *Arabidopsis thaliana* como sistema modelo, hemos identificado GONST4, el cual comparte características moleculares con TNAs previamente descritos, que transportan GDP-azúcares. Nuestro trabajo está centrado en la caracterización bioquímica y fisiológica de GONST4. Para lograr este objetivo, se fusionó GONST4 con diferentes epitopos y usando *Agrobacterium*, se transformó tabaco transitoriamente, encontrándose que GONST4-His y GONST4-GFP se localizan en el Golgi. Un posible sustrato de GONST4 es GDP-L-galactosa, la cual fue sintetizada enzimáticamente a partir de GDP-D-manosa para su uso en ensayos de transporte. Tanto GONST4-His, como GONST4-GFP, fueron capaces de importar GDP-L-fucosa y GDP-L-galactosa, pero no GDP-D-manosa o UDP-D-glucosa, en fracciones enriquecidas en Golgi extraídas de tabaco agro-infiltrado. Además, para determinar el papel *in vivo* de GONST4, sus niveles de expresión fueron reducidos por silenciamiento genico post-transcripcional. Utilizando líneas de *Arabidopsis* transformadas con un vector para fusión promotor-GUS, se encontró que este TNA es altamente expresado en órganos florales y raíces, pero no en cotiledones. Por lo tanto, la morfología y composición de glicoconjugados que contienen L-fucosa y/o L-galactosa están siendo estudiados en profundidad en estos órganos. Por lo tanto, GONST4 es un TNA capaz de importar GDP-L-fucosa en *Arabidopsis* y el único TNA capaz de transportar GDP-L-galactosa descrito. Financiamiento: FONDECYT Iniciación 11060470.

EXPRESIÓN GÉNICA

PAPEL DE AtGrxS13 EN EL CONTROL REDOX BAJO ESTRÉS ABIÓTICO EN ARABIDOPSIS (Role of AtGrxS13 in the redox control under abiotic stress in *Arabidopsis* plants) **Laporte, D.**¹, Olate, E.¹, Salazar, M.¹, Blanco, F.¹, Salinas, P.¹, Holuigue, L.¹ Pontificia Universidad Católica de Chile.¹ El ácido salicílico (SA) y las especies reactivas de oxígeno (ROS) son señales claves producidas por las plantas sometidas a condiciones de estrés, las cuales producen la activación de un grupo de genes de defensa. Nuestro grupo ha identificado un grupo de genes que responden transcripcionalmente a tratamientos con SA. Uno de estos genes codifica para una glutaredoxina (AtGrxS13), la cual posee una localización núcleo-citoplasmática. Nuestros ensayos indican que SA activa rápidamente la transcripción de AtGrxS13 por un mecanismo que requiere de factores de transcripción del tipo TGA II (TGA 2/5/6). AtGrxS13 también responde transcripcionalmente a estrés oxidativo y a inoculación con la bacteria avirulenta *Pseudomonas syringae* pv. tomato AvrRpm1. Nosotros hemos obtenido diferentes líneas transgénicas de *Arabidopsis* que silencian y sobre-expresan este gen. Nuestros resultados indican que la sobre-expresión de AtGrxS13 en *Arabidopsis* produce un estado redox basal más reductor con una menor concentración de iones superóxido, así como un menor daño oxidativo producido por tratamientos con alta intensidad de luz. Por el contrario, el silenciamiento de AtGrxS13 produce un aumento en la concentración de iones superóxido en condiciones basales, un menor porcentaje de germinación y biomasa bajo condiciones de estrés abiótico (salino, oxidativo) y un mayor daño oxidativo bajo tratamientos con alta intensidad de luz. Estos resultados indican que este gen es requerido para mantener la homeostasis redox en plantas sometidas a estrés abiótico. Financiado por FONDECYT n° 1060494 y Núcleo Milenio en Genómica Funcional de Plantas (P06-009-F).

ANÁLISIS FUNCIONAL DE LAS SECUENCIAS REGULADORAS PRESENTES EN EL PROMOTOR DEL GEN *gpdP*, QUE CODIFICA PARA LA GLICERALDEHIDO-3-FOSFATO DESHIDROGENASA DE *Penicillium camemberti* (Functional analysis of regulatory sequences located in the promoter of *gpdP* gene, which encodes for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Penicillium camemberti*) **Chavez, R.**¹, Espinosa, Y.¹, Sepulveda, F.¹, Cadena, J.¹, Vaca, I.². Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile². En nuestro laboratorio, recientemente hemos secuenciado el gen *gpdP* de *Penicillium camemberti*, que codifica para la enzima gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenada, el cual podría proporcionar un promotor adecuado para dirigir la transcripción eficiente de genes de interés en este organismo. En este trabajo, se muestra la secuenciación y caracterización del promotor de *gpdP*. El promotor fue aislado mediante Genome Walker, presentando un elevado grado de similitud con otros promotores de *gpd* de otros ascomicetes, principalmente del género *Aspergillus*. El promotor presenta dos posibles secuencias o cajas regulatorias, llamadas CT-box (caja más proximal) y GPD-box (caja más distal). Para analizar funcionalmente el promotor, se clonaron dos fragmentos en el plásmido pAN49-1, que contiene el gen de β -galactosidasa como gen reportero: el Fragmento A, conteniendo ambas cajas, y el Fragmento B, conteniendo solo la caja CT-box proximal. Con estas construcciones se transformó *A. nidulans*, y se midió la actividad β -galactosidasa de varios transformantes crecidos en glucosa. Los resultados de actividad enzimática específica muestran que las mayores actividades se obtienen usando el Fragmento A conteniendo las cajas CT-box y GPD-box, con valores de hasta 40 U/mg. Y si bien la caja CT-box proximal por sí sola es capaz de generar actividad β -galactosidasa, pocos transformantes conteniendo el Fragmento B superan los 10 U/mg, con 15 U/mg como máximo. Nuestros resultados indican además que ambos fragmentos son también funcionales en glicerol y galactosa como fuentes de carbono. Financiamiento FONDECYT 11060003 y DICYT-USACH

ESTUDIO DE LA BIOSÍNTESIS DE CAROTENOIDES EN *Daucus carota* (ZANAHORIA). (Carotenoid Biosynthesis Study in *Daucus carota* (carrot).) Pizarro, L.¹, Fuentes, P.¹, Stange, C.¹ Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹. Los carotenoides son pigmentos antioxidantes precursores de la vitamina A en mamíferos. En plantas participan en la fotosíntesis y fotoprotección. Se acumulan durante la maduración otorgando coloración anaranjada a hojas, flores, frutos y raíces. *Daucus carota* es una planta que acumula grandes cantidades de carotenoides como β -caroteno en la raíz modificada, a través de la expresión de los genes fitoeno sintasa (*psy1* y *2*), fitoeno desaturasa (*pds*), *z*-caroteno desaturasa (*zds1* y *2*) y licopeno β -ciclase (*lycb1* y *2*). Mediante HPLC y RTq determinamos que los carotenoides en hojas no cambian significativamente durante el desarrollo, a pesar que existen diferencias significativas en la expresión de genes carotenogénicos, sugiriendo una regulación postraduccional de las enzimas. En la raíz, la acumulación de los carotenoides y la expresión de los genes carotenogénicos aumentan significativamente durante el desarrollo. Esto indica que existe una correlación entre la sobre expresión de los genes carotenogénicos, la biosíntesis de carotenoides y el desarrollo de la raíz modificada. El gen *lycb1* presenta el mayor aumento de expresión durante el desarrollo en hojas y en la raíz modificada. Por ello, se determinó su función *in vivo* mediante silenciamiento génico postraduccional. El silenciamiento de *lycb1* produjo una reducción de hasta un 60% de carotenoides totales y de β -caroteno en hojas y raíz modificada. Este resultado indica que *lycb1* codifica para una enzima funcional que participa en la biosíntesis de carotenoides en ambos órganos, descartando una función órgano específica. Financiamiento: Proyecto Fondecyt 11080066.

EFFECTO DE LA SUPRESIÓN DEL GEN *FcMYB1* MEDIADA POR RNAi EN LA SÍNTESIS DE ANTOCIANINAS EN FRUTOS DE FRUTILLA NATIVA, *Fragaria chiloensis* L. (DUCH.) (Effect of *FcMYB1* suppression RNAi-mediated in anthocyanin synthesis in native strawberry fruit, *Fragaria chiloensis* L. (Duch.)) **Salvatierra, A.**¹, Pimentel, P.¹, Moya-León, A.¹, Caligari, P.¹, Herrera, R.¹. Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular, IBVB, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca, Chile¹. En el género *Fragaria*, el color del fruto se origina por acumulación de antocianinas durante la maduración. La generación de estos compuestos responde a la acción coordinada de enzimas codificadas por genes estructurales de la vía de biosíntesis de flavonoides los cuales están regulados por factores de transcripción (TFs). En el caso de esta vía, los genes estructurales están mayormente coordinados por factores de transcripción del tipo *R2R3-MYB*. *FcMYB1* es un TF represor aislado en *Fragaria chiloensis*, ortólogo de *FaMYB1* de *Fragaria x ananassa*, y cuyo nivel de transcrito es mayor en la frutilla nativa respecto de la comercial. La represión de *FcMYB1* por acción de RNAi evidencia un cambio de coloración en los frutos agroinfiltrados. La acumulación de antocianinas y los cambios en la expresión de genes estructurales sugieren que *FcMYB1* ejerce una acción moduladora de la vía de síntesis de antocianinas en el fruto de *Fragaria chiloensis*. Agradecimientos a Proyecto PBCT Anillo ACT-41 por apoyo financiero y Conicyt por beca doctoral a P. Pimentel.

LA TRANSCRIPCIÓN DE UN cDNA CON ALTA IDENTIDAD A UNA ACUAPORINA DE LA SUBFAMILIA NIP SE INCREMENTA DURANTE EL DESARROLLO DEL FRUTO DE *Fragaria chiloensis* L. (DUCH.)

(The transcription of a cDNA with high identity to an aquaporin belonging to the NIP subfamily is increased during development of *Fragaria chiloensis* fruit.) Pimentel, P.¹, Salvatierra, A.¹, Moya-León, A.¹, Herrera, R.² Laboratorio Fisiología Vegetal y Genética Molecular, IBVB, Universidad de Talca, Chile¹. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca².

El desarrollo y maduración de frutos de frutilla nativa, *Fragaria chiloensis*, está asociado a cambios en aroma, sabor, color y textura. Este último es importante ya que determina la vida de postcosecha. Adicionalmente a aquellas enzimas que participan del desensamblaje de pared celular, existe otro factor que afecta la firmeza del fruto: el turgor. Para ampliar nuestro conocimiento acerca del proceso de maduración de frutos, se generaron librerías substractivas supresivas. Dentro de los cDNAs diferencialmente expresados en la librería de fruto maduro se encontró uno con alta identidad a una acuaporina de la subfamilia NIP. El análisis transcripcional mediante qPCR muestra un aumento en su expresión en los últimos estadios de desarrollo. De igual manera, su expresión se mantiene constante en frutos cosechados y mantenidos a 4°C por veinte días, pero decae rápidamente a 20°C. Esto sugiere que *FcNIP2* estaría relacionado con la mantención de turgor de frutos en postcosecha. Agradecimientos: Proyecto PBCT Anillo ACT-41 por apoyo financiero y Conicyt por beca doctoral P. Pimentel.

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE ENZIMAS HEMICELULOLITICAS POR PARTE DE *Penicillium purpurogenum* CRECIDO EN COSETA DE REMOLACHA Y XILANO ACETILADO

(Differential expression of hemicellulolytic enzymes by *Penicillium purpurogenum* when grown on sugar beet pulp and acetylated xylan) Navarrete, M.¹, Callegari, E.², Eyzaguirre, J.¹ Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello¹. Universidad de Dakota del Sur, Vermillion, SD, USA².

La coseta de remolacha es un residuo agroindustrial de potencial uso biotecnológico en la generación de biocombustibles. Pero la degradación de ésta y otras fuentes de carbono a monosacáridos fermentables depende de la acción de diversas enzimas hemicelulolíticas las cuales son secretadas por hongos y bacterias. Los hongos han destacado debido a su alta capacidad secretora. Entre estos, *Penicillium purpurogenum* es un hongo que secreta una gran diversidad de enzimas que le permiten una eficiente degradación de este sustrato y de otros tales como coronta de maíz y otras fuentes ricas en xilano. Para poder entender este complejo sistema de degradación hemos utilizado un enfoque proteómico en el cual estudiamos la expresión de proteínas secretadas al medio extra celular (secretoma). Este secretoma ha sido desplegado a través de geles bidimensionales de 17 cm donde hemos resuelto más de 250 proteínas las cuales se representan en forma de manchas (spots) que son cortadas desde los geles y sometidos a identificación por espectrometría de masas. El uso de la tinción DIGE (difference gel electrophoresis) nos permite ver en un mismo gel las enzimas que son secretadas en una condición y no en otra. En este trabajo mostramos la expresión diferencial de *Penicillium purpurogenum* en coseta y xilano acetilado y la identificación de enzimas claves para su degradación tales como acetil xilano esterasas y glucanasas. También evidenciamos la existencia de un gran número de secuencias sin función asignada.

FUNCIÓN DE UN FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN bZIP EN LA TOLERANCIA A ESTRÉS Y REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN TOMATE

(Role of a bZIP transcription factor in stress tolerance and regulation of gene expression in tomato) Orellana, S.¹, Yañez, M.¹, Ruiz-Lara, S.¹, Casaretto, J.A.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Talca, Chile¹.

En plantas, los factores de transcripción bZIP tipo AREB/ABF participan en la regulación de la expresión génica asociada con procesos de respuesta a estrés abiótico como sequía y salinidad. Factores bZIPs que comparten homología con esta familia, denominados SIAREB1 y SIAREB2, han sido identificados en tomate (*Solanum lycopersicum*). Estudios previos demostraron que su expresión es inducida en respuesta a deshidratación y estrés salino. Además, plantas transgénicas de tomate que sobre-expresan *SIAREB1* presentan mayor tolerancia a alta salinidad y deshidratación que plantas con niveles reducidos de transcritos de este gen, según evaluación de parámetros fisiológicos e indicadores de daño como contenido relativo de agua, eficiencia del aparato fotosintético y peroxidación de lípidos. Con el fin de identificar los genes regulados por este factor de transcripción y que podrían estar relacionados con la mayor tolerancia a estrés abiótico de las líneas que sobre-expresan *SIAREB1*, se analizaron perfiles transcripcionales mediante la tecnología de microarreglos. Los resultados revelaron un total de 280 genes con expresión diferencial entre tejido foliar de plantas silvestres y plantas que sobre-expresan *SIAREB1* y 75 genes en tejido radicular. De estos genes, 230 son inducidos en hojas de plantas que sobre-expresan *SIAREB1*, entre los cuales se detectaron genes asociados con respuestas tanto a estrés abiótico como a estrés biótico. Estos resultados sugieren que SIAREB1 es un regulador clave en la transcripción de genes involucrados en la tolerancia a estrés. Financiado por Fondecyt 1060843, IFS C-4075.

ANÁLISIS DE BIBLIOTECAS SUBSTRACTIVAS ESPECÍFICAS DE LA RESPUESTA GRAVITRÓPICA EN *Pinus radiata* D. DON.

(Analysis of subtractive specific libraries of gravitropic response in *Pinus radiata* D. Don.) Ramos Campos, P.¹, Cruz, N.¹, Gantz, C.², Herrera Faundez, R.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca¹. Forestal Mininco².

En la naturaleza, coníferas desarrollan madera de compresión respondiendo al estímulo gravitropico, sin embargo, los genes y el mecanismo molecular involucrado es aun desconocido. Estudiamos la expresión de genes en respuesta al estímulo gravitropico inducido por inclinación a 45° de plántulas de pino radiata. Se extrajo RNA total a tiempos 2,5h, 10h, 24h y 30 días de inclinación, desde la zona inferior y superior del tallo, previo corte longitudinal de la zona de curvatura. De estos RNAs se generaron 8 bibliotecas supresivas substractivas de ESTs, conteniendo un total de 2653 clones con fragmentos entre 100 y 1500pb. Las secuencias obtenidas fueron ensambladas, analizadas y categorizadas según FunCat, destacando diferencias de expresión entre mitad superior e inferior y a distintos tiempos de inclinación en grupos de genes relacionados con metabolismo, transducción de señales y transporte celular entre otros. De los involucrados en metabolismo destacan los relacionados a remodelación de pared celular y metabolismo de azúcares. Otro grupo importante fue factores de transcripción. Se seleccionaron genes candidatos y analizaron por qPCR. Genes involucrados en transducción de señales hormonales y rutas metabólicas, principalmente de fenilpropanoides, son efectivamente expresados diferencialmente. Financiamiento: Fondecyt 1071026, Ecos-Conicyt C07B01. Conicyt Doctoral PR.

BIOMEDICINA

HIPERMETILACIÓN DE LOS PROMOTORES DE LOS GENES RASSF1 Y P16 EN TUMORES DE MAMA HEREDITARIO

(Hypermethylation of RASSF1 and p16 promoters in hereditary breast tumors) **Tapia, T.**¹, Alvarez, C.¹, Castillo, E.¹, Faundez, P.¹, Camus, M.², Alvarez, M.², Carvallo, P.¹. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile². En cáncer, un gen supresor de tumor requiere el silenciamiento de ambos alelos para perder su función, siendo la hipermetilación de su promotor uno de los mecanismos observados. En cáncer de mama esporádico, se han encontrado hipermetilados los promotores de *RASSF1* y *p16*, en el 49-75% y el 40-50% de los tumores, respectivamente. Estos genes supresores de tumor participan activamente en la regulación del ciclo celular, por lo tanto, el silenciamiento de ambos alelos en el tumor sugiere su participación en esta enfermedad. Previamente, mediante Array-CGH, encontramos que un 17,8% de nuestros tumores hereditarios presentan delección de un alelo de *RASSF1*(3p21), sugiriendo su participación en cáncer de mama hereditario. Nosotros, estudiamos la hipermetilación de los promotores de *RASSF1* y *p16* en 47 tumores hereditarios. Para esto, el DNA tumoral modificado con bisulfito de sodio fue amplificado por PCR utilizando partidores específicos para la condición metilada y no-metilada. Un 56,4% de los tumores hereditarios presentan hipermetilación en *RASSF1*, y un 27,6% en *p16*. De los tumores hipermetilados en *RASSF1* y *p16*, 10(45,5%) y 4(30,7%) presentan ambos alelos metilados, sugiriendo la inactivación de su expresión. Asimismo, sólo 4(10%) tumores presentan ambos genes hipermetilados, sugiriendo que la inactivación de *RASSF1* mediante este mecanismo epigenético ocurre de manera independiente de la inactivación de *p16*. Nuestros resultados, sugieren la participación de ambos genes supresores de tumor en el desarrollo del cáncer de mama hereditario, mediante su silenciamiento por hipermetilación de sus promotores. Fondecyt 1080595.

CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN Y/O ACTIVACIÓN DE MOLÉCULAS RELACIONADAS CON LA VÍA METABÓLICA DE LA INSULINA EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP)

(Analysis of changes in the expression and/or activity of molecules linked to insulin-signaling pathways in endometrial tissue samples from Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) women) **Ormazabal, P.**¹, Fornes, R.¹, Rosas, C.¹, Gabler, F.², Vantman, D.³, Romero, C.³, Quest, A.F.⁴, Vega, M.¹. Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva-HCUCH¹. Dpto. Anatomía-Patológica, Facultad de Medicina² Dpto. Obstetricia/Ginecología-HCUCH³. Laboratorio de Comunicaciones Celulares, FONDAP-CEMC, Facultad de Medicina-UCH⁴. **Patrocinante: Lavadero, S.**
Introducción: El SOP es un desorden endocrino-metabólico que se caracteriza por hiperandrogenismo, oligo/anovulación y, frecuentemente, insulinoresistencia. La insulina a través de su receptor (RI) favorece la translocación de GLUT4 hacia la membrana celular mediante la activación del sustrato de Akt: AS160. Por otro lado, caveolina-1 participa indirectamente estabilizando al RI y/o favoreciendo la fosforilación de IRS-1. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la expresión y actividad de moléculas relacionadas con la vía de la insulina en endometrios de pacientes con SOP e insulinoresistencia (ESOP-IR) en relación a endometrios controles proliferativos (ENp). Metodología: En biopsias de ENp y ESOP-IR se detectó por Inmunohistoquímica los niveles de caveolina-1. Los niveles y fosforilación de RI, IRS-1 y AS160, y el contenido de GLUT4 y caveolina-1 se evaluó por Western Blot (WB). Resultados: Los ENp y ESOP-IR mostraron inmunotinción positiva para caveolina-1 en estroma y epitelio, particularmente ESOP-IR presentó una mayor inmunotinción en el compartimento estromal en relación a controles ($p < 0,05$). Mediante WB, el contenido del RI, pY-RI y AS160 fue semejante entre los grupos estudiados; sin embargo, se encontró un nivel mayor de caveolina-1 y menor de IRS-1, pY-IRS-1, pT-AS160 y GLUT4 en ESOP-IR en relación a ENp ($p < 0,05$). Conclusión: La alteración en el contenido y/o activación de moléculas pertenecientes a la vía metabólica de la insulina en ESOP-IR, podría estar siendo compensada por la mayor expresión de caveolina-1 en estos endometrios (FONDECYT 1095127-FONDAP 15010006).

IDENTIFICACIÓN DE ALTERACIONES GENÓMICAS EN CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO: ANÁLISIS POR MICROARREGLOS DE DNA

(Identification of genomic aberrations in hereditary breast cancer: a DNA microarray analysis) **Alvarez, C.**¹, Solís, L.M.², Corvalán, A.², Alvarez, M.², Camus, M.², Rozenblum, E.³, Munroe, D.³, Carvallo, P.¹ Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile². Laboratory of Molecular Technology, SAIC-Frederick Inc., NCI, National Institutes of Health, Frederick, MD, USA³.

Mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* otorgan alto riesgo a desarrollar cáncer de mama y son responsables de esta enfermedad en sólo el 20% de las familias Chilenas. Esto indica que deben existir otros genes responsables del cáncer de mama. Para buscar genes involucrados en la génesis y/o el progreso del cáncer de mama hereditario *no-BRCA1/BRCA2(BRCAX)*, analizamos, mediante Array-CGH, el DNA genómico de 45 biopsias *BRCAX*, comparándolas con 3 *BRCA1* y 4 *BRCA2*. De esta manera, identificamos deleciones y ganancias de regiones cromosómicas que contienen genes supresores de tumor y proto-oncogenes, respectivamente. Nuestro análisis reveló que las biopsias *BRCAX* presentan un perfil de alteraciones genómicas diferente a las muestras de pacientes con mutación en *BRCA1* o *BRCA2*. Las regiones cromosómicas delecionadas con mayor frecuencia en el grupo *BRCAX* son 12p13(22,2%), 1p35.3(20%) y 3p21.2(17,8%); y las regiones que presentan ganancia con mayor frecuencia en estos tumores son 1q21-q23.2 y 8q23-q24.3(17,8%), y 20q13.2(15,6%). El análisis comparativo entre los resultados de este estudio con dos bases de datos de microarreglos de expresión en cáncer de mama, reveló que existe concordancia entre deleción/disminución de expresión de 7 genes y ganancia/aumento de expresión de 11 genes. Así, hemos encontrado genes que tienen un potencial desempeño como supresores tumorales o proto-oncogenes, respectivamente. Nuestros resultados muestran la participación de genes con funciones tan diversas como señalización, metabolismo y adhesión celular en el desarrollo del cáncer de mama hereditario de los pacientes *BRCAX*. Fondecyt 1040779-1080595.

ANÁLISIS GENÉTICO DEL GEN *MSH6* EN FAMILIAS CON CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO NO POLIPOSO

(Genetic Analysis of *MSH6* gene in families with Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer) **Orellana, P.**^{1,2}, Alvarez, K.^{1,2}, Garmendia, A.³, Contreras, L.³, Church, J.⁴, López-Kostner, F.¹, Carvallo, P.² Laboratorio de Oncología y Genética Molecular, Clínica las Condes¹. Laboratorio de Genética Molecular Humana, Pontificia Universidad Católica de Chile². Departamento de Anatomía Patológica, Clínica Las Condes³. The Cleveland Clinic Foundation, Ohio, USA⁴. El Cáncer Colorrectal Hereditario No Poliposo (HNPCC) se origina por mutaciones en la línea germinal en los genes reparadores de DNA, *MLH1*, *MSH2* y *MSH6*. En este estudio se analizaron 25 familias chilenas con HNPCC sin mutación en *MLH1* y *MSH2*, con el objetivo de buscar mutaciones en *MSH6*. Se amplificaron por PCR los 10 exones de *MSH6* y se analizaron por la técnica de conformómeros de hebra simple (SSCP) y secuenciación de DNA. Se identificaron 5 variantes alélicas en 5 familias: un cambio intrónico c.2693-18T>A, dos cambios silentes c.3246G>T (p.P1082P), c.1449G>T (p.V483V), un cambio aminoácido c.362T>C (p.I120T), y una inserción en la región 3UTR c*26insAGTT. El cambio c*26insAGTT se encontró además en 2 familiares del caso índice. Cabe destacar que la proteína MSH6 no fue detectada por inmunohistoquímica del tumor en el caso índice. Con el fin de analizar una probable alteración del splicing debido a los cambios nucleotídicos encontrados, se realizaron estudios de RT-PCR, donde no se demostró alteración del splicing. Además, para determinar si estos cambios podrían afectar los niveles de expresión de mRNA, se realizó RT-PCR en tiempo real, sin encontrar variación en los niveles del transcrito. En conclusión, se encontraron 5 cambios en cinco familias chilenas, donde el cambio c*26insAGTT, podría ser causante del cáncer en esta familia, por lo que se requieren estudios a nivel de traducción de proteínas. Los cambios restantes, probablemente no sean responsables del cáncer. Financiado The Cleveland Clinic Foundation.

BÚSQUEDA DE MARCADORES BIOQUÍMICOS SISTÉMICOS Y TISULARES EN PACIENTES CON FIBRILACIÓN AURICULAR POST-OPERATORIA

(Systemic and tisular biomarkers in patients with post-operative atrial fibrillation) **García, L.**¹, Verdejo, H.², Solís, M.¹, García, A.¹, Becerra, E.¹, Navarro, M.¹, Zully, P.¹, Roldán, J.¹, Corbalán, R.², Lavandero, S.¹ Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹. Facultad de Medicina, Universidad Católica de Chile².

Antecedentes: La fibrilación auricular (FA) post-operatoria es una arritmia que se presenta en 30% de los pacientes sometidos a cirugía cardiaca. Esta patología deteriora la calidad de vida y aumenta la mortalidad. Aunque la inflamación y estrés oxidativo se han asociado con su ocurrencia, no se ha establecido si estos procesos son causa o consecuencia. Objetivo. Investigar si parámetros tisulares y sistémicos de inflamación, estrés oxidativo o remodelado cardiaco predicen desarrollo de FA post-operatoria. Tipo y grupos de estudio: Estudio prospectivo con 144 pacientes (67±8 años, 78% hombres). Tres grupos: sin FA, con evento FA post-operatorio y con FA crónica. Metodología: En muestras sanguíneas pre y post-operatorias se cuantificaron los marcadores de inflamación (VCAM-1 y trombosmodulina), estrés oxidativo (malondialdehído, glutatión peroxidasa, óxido nítrico y 8-isoprostano) y remodelado (actividades MMP-2 y -9). En aurícula derecha se determinaron los marcadores de estrés oxidativo (carbonilación de proteínas) y remodelado cardiaco (actividades MMP-2 y -9). Resultados y conclusiones: Los niveles totales de proteínas carboniladas en tejido cardiaco, pero no la actividad de MMP-9, fueron significativamente mayores en pacientes con FA post-operatoria respecto a los controles y la actividad MMP-9 fue significativamente menor en la FA crónica. Los parámetros sistémicos de inflamación y estrés oxidativo entre los tres grupos no fueron diferentes al comparar los estados pre y post-operatorio. En pacientes que desarrollaron FA post-operatoria se encontraron niveles significativamente elevados de VCAM-1 y trombosmodulina en el estado pre-operatorio, prediciendo aparición de FA. Fondecyt 1070641.

BIOQUÍMICA DE PLANTAS

EL MÓDULO REGULADORIO miR393:AFB3 CONTROLA LA ARQUITECTURA DE LA RAÍZ EN RESPUESTA A NITRATO EN *Arabidopsis thaliana*. (The novel nitrate responsive miR393:AFB3 regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana*.) **Vidal, E.A.**¹, Araus, V.¹, Lu, C.², Green, P.J.², Coruzzi, G.M.³, Gutiérrez, R.A.^{1,3}. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹ Department of Plant and Soil Sciences, Delaware Biotechnology Institute, University of Delaware.² Department of Biology, New York University.³

Uno de los ejemplos más notables de plasticidad en el desarrollo vegetal en respuesta a cambios ambientales es la modulación de la arquitectura de la raíz en respuesta a la disponibilidad de nitrato. Sin embargo, los mecanismos moleculares involucrados en esta respuesta son poco conocidos. Estudios de expresión génica global sugieren que la regulación post-transcripcional por RNAs pequeños (sRNAs) podría ser un mecanismo importante en la respuesta a nitrato en raíces de *Arabidopsis*. Para evaluar el papel de los sRNAs en mediar la respuesta a nitrato en *Arabidopsis*, secuenciamos sRNAs provenientes de plantas control y tratadas con nitrato mediante la tecnología 454. Nuestro análisis identificó miR393, que tiene como blancos los transcritos de un factor de transcripción bHLH y de los receptores de auxina TIR1, AFB1, AFB2 y AFB3. Sin embargo, solamente AFB3 es regulado por nitrato en raíces. AFB3 está sujeto a un mecanismo regulador de feed-forward incoherente tipo I en el cual nitrato regula su inducción y metabolitos río abajo de nitrato regulan su represión mediante miR393. Para comprender el papel funcional de este módulo regulador, analizamos la respuesta a nitrato de raíces primarias y laterales de plantas mutantes para AFB3 y también en plantas que sobreexpresan miR393. Este análisis reveló que miR393:AFB3 es un módulo que regula la arquitectura de la raíz en respuesta a N externo e interno en *Arabidopsis*. Financiamiento: Núcleo Milenio en Genómica Funcional de Plantas (P06-009-F), FONDECYT(1060457), ICGEB(CRPCHI0501), NIH-FIRCA(1R03PW007823-01A1_F614-01) y Beca CONICYT(AT-24080114).

OBTENCIÓN DE TOMATES QUE EXPRESAN UN mRNA DE UN EPITOPE DE UNA PROTEÍNA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (Obtaining tomatoes expressing an epitope of an mRNA of a protein of Hepatitis C Virus) **Jauregui, F.**¹, Arce-Johnson, P.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹. El Virus de la Hepatitis C (VHC) es el agente causal de la Hepatitis C. El número de personas infectadas se estima en 3% de la población mundial. Actualmente no existe vacuna contra este patógeno. Core es la proteína de la capsida del VHC y ha mostrado poseer actividad inmunogénica en el hospedero. Con el fin de expresar una porción de Core en plantas de tomate, una secuencia de 357 nucleótidos, que codifica para los primeros 119 aminoácidos de esta proteína, fue amplificada. La secuencia parcial de este gen fue clonada en un vector binario bajo el control transcripcional del promotor p35S del Virus del Mosaico de la Coliflor, el cual dirige una expresión constitutiva en plantas. *Agrobacterium tumefaciens* fue transformado con este plasmidio y luego, la bacteria fue usada para transformar explantes tipo cotiledón por co-cultivo. Se regeneraron en medio de cultivo selector 5 plantas a partir de los explantes transformados, las cuales se mantuvieron en invernadero. Verificamos la presencia del gen Core y de su transcrito en 3 plantas mediante PCR y RT-PCR, sin embargo, la expresión fue distinta entre algunas plantas. Actualmente, estamos analizando la expresión del péptido en estas plantas, las cuales podrían ser usadas en el desarrollo de una vacuna oral contra VHC, por lo tanto, estudiaremos la capacidad inmunogénica de estas plantas en el futuro. Agradecimientos a Núcleo Milenio Genómica Funcional de Plantas.

ESTUDIOS SOBRE LA FUNCIÓN Y EXPRESIÓN DE UNA SUBUNIDAD ESPECÍFICA DE EMBRIOGÉNESIS DEL COMPLEJO II MITOCONDRIAL DE *Arabidopsis thaliana* (Studies on the function and expression of an embryo specific subunit of *Arabidopsis thaliana* mitochondrial Complex II) **Restovic, F.**¹, Roschztardt, H.¹, Vásquez, M.¹, Corbalán, C.¹, Gómez, M.I.¹, Jordana, X.¹ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹

La proteína hierro-azufre (SDH2) del complejo II (succinato deshidrogenasa) de *Arabidopsis thaliana* se encuentra codificada en el núcleo por tres genes. Dos de ellos, *SDH2-1* y *SDH2-2*, son estructuralmente semejantes y se expresan de manera similar en todos los tejidos de la planta adulta. Por otro lado, el gen *SDH2-3* se expresa específicamente en el embrión, durante la fase de maduración del desarrollo de la semilla. Dada la importancia de la embriogénesis en el ciclo de vida de la planta, nuestro laboratorio ha abordado el estudio de la función y regulación transcripcional del gen *SDH2-3*. Hemos determinado que mutantes en este gen presentan una disminución drástica de la actividad del complejo II en semillas, un retraso en la germinación y estructuras globoides en las vacuolas de almacenamiento del embrión. A su vez, hemos identificado elementos *cis* en el promotor y factores de transcripción típicos de embriogénesis, involucrados en la regulación transcripcional de este gen. Finalmente, el análisis de mutantes de DNA metiltransferasas sugiere un rol de esta modificación en la regulación de la expresión de *SDH2-3* en tejido adulto y embrionario. Fondecyt 1060485. Núcleo Milenio P06-009-F.

LLP, UNA LECTINA DE ARABIDOPSIS INDUCIDA POR ÁCIDO SALICÍLICO, INVOLUCRADA EN LA RESPUESTA DE DEFENSA CONTRA *Pseudomonas syringae* (LLP, an *Arabidopsis* lectin-induced by Salicylic acid, is involved in the defense response against *Pseudomonas syringae*) **Armijo, G.**¹, Salinas, P.¹, Leiva, D.¹, Holuigue, L.¹ Laboratorio Biología Molecular Vegetal, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.¹

El ácido salicílico (SA) es una fitohormona crucial para el establecimiento de la respuesta de defensa a patógenos, principalmente cuando son reconocidos de manera específica. Los genes activados por SA son esenciales en la respuesta local y la posterior inmunización de la planta. En nuestro laboratorio se identificó un grupo de genes activados tempranamente por SA, dentro de los cuales LLP (lectin-like-protein) presenta el mayor nivel de inducción. LLP codifica para una proteína que posee similitud con las lectinas de leguminosas y no ha sido asociado a una función biológica. Además, es transcripcionalmente activado por inoculación con *Pseudomonas syringae* pv tomato (Avr-Rpm1). El propósito de este trabajo, sustentado en los antecedentes existentes para lectinas de otras especies vegetales, es evaluar el papel de LLP en la respuesta de defensa de la planta. Para esto, hemos aislado y caracterizado una línea homocigota nula, mutante insersional para el gen. En paralelo, hemos desarrollado líneas transgénicas sobreexpresoras fusionadas al epítopo c-Myc o a la proteína GFP. Con éstas últimas, y mediante microscopía confocal, hemos determinado que LLP se localiza en la membrana plasmática de la célula vegetal. Mediante un análisis de pérdida o ganancia de función, evaluando la proliferación de *Pseudomonas* en las líneas nulas y sobreexpresoras, hemos determinado que LLP participa en la respuesta de defensa ante *Pseudomonas syringae* AvrRpm1, disminuyendo su proliferación. Actualmente investigamos el papel específico del gen en el proceso. Financiamiento: FONDECYT-CONICYT (1060494); Núcleo Milenio Genómica Funcional Plantas (P06-009-F).



DESARROLLO DE NUEVOS PROMOTORES GENÉTICOS DE LEVADURA PARA USO EN INGENIERÍA METABÓLICA (New yeast genetic promoters to use in metabolic engineering) **Vargas, F.**¹, Stephanopoulos, G.², Agosin, E.¹. Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Bioinformatics & Metabolic Engineering Laboratory, Department of Chemical Engineering, Massachusetts Institute of Technology².

El enorme campo de posibilidades que ofrece la actual ingeniería metabólica abre, cada día, nuevas puertas para el desarrollo de nuevos microorganismos con propiedades interesantes, tanto para ciencia como para la industria. Sin embargo, estas modificaciones están limitadas muchas veces a estrategias de delección o sobreexpresión de alguna de las enzimas de la red metabólica. Para mejorar esta limitante se desarrollaron dos librerías de promotores genéticos de diferente fuerza, a partir de la mutagénesis del promotor constitutivo PGK1 y del promotor estado estacionario-específico SPI1 de levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Se realizaron caracterizaciones tanto a nivel célula a célula, para asegurar la homogeneidad de la población, como de la expresión génica relacionada a la cantidad de mRNA. La librerías comprenden desde 20% hasta un 100% de la actividad nativa para el promotor SPI1 y desde 10% hasta 279% de la actividad nativa para el promotor PGK1. Estos resultados muestran un gran potencial de las librerías desarrolladas en la redistribución de flujos metabólicos. Además con gran trascendencia se vislumbra el promotor PGK1 que es 279% y 602% más fuerte que los promotores PGK1 y TEF1 nativos, respectivamente.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PLANTAS MUTANTES EN ACA7, UN GEN QUE CODIFICA PARA UNA Ca²⁺-ATPasa AUTORREGULADA POR CALMODULINA Y QUE ES REQUERIDO PARA EL DESARROLLO DEL POLEN EN *Arabidopsis thaliana* (Identification and characterization of ACA7, a gene encoding a calmodulin autoregulated Ca²⁺-ATPase required for pollen development in *Arabidopsis thaliana*) **Lucca, N.**¹, León, G.¹. Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello¹.

En los últimos años ha crecido considerablemente el interés en tratar de dilucidar los mecanismos moleculares y genéticos involucrados en el desarrollo del gametofito masculino en plantas. Un primer acercamiento consiste en la identificación de plantas mutantes en las que el desarrollo del polen se encuentre afectado. Estas mutaciones se llaman gametofíticas, y pueden afectar tanto la viabilidad como la función del polen. Nuestro laboratorio ha desarrollado una metodología rápida y eficiente para poder identificar genes candidatos que pueden poseer un papel esencial para el desarrollo del polen. Usando esta metodología hemos identificado a ACA7, un gen que pertenece a una familia génica de bombas de calcio autorreguladas por calmodulina que se expresa solamente en granos de polen en desarrollo. Dos líneas mutantes alélicas (aca7-1 y aca7-2) muestran un fenotipo similar, con granos de polen morfológicamente alterados y muertos, lo que sugiere que aca7 sería una mutación gametofítica. Ensayos de complementación en levaduras mutantes sugieren que ACA7 actuaría como una Ca²⁺-ATPasa in vivo. Análisis in silico de la secuencia de la proteína indican que se localizaría en la membrana plasmática, información que será corroborada mediante el análisis de la localización subcelular de la proteína de fusión ACA7:GFP en ensayos de transformación transiente en tabaco. Estos resultados indican que ACA7 tendría un papel importante para el desarrollo del polen, posiblemente relacionado con la homeostasis de calcio. Financiado por proyecto FONDECYT 11080037.

IDENTIFICACIÓN DIRIGIDA DE GENES REQUERIDOS PARA EL DESARROLLO Y FUNCIÓN DEL POLEN EN *Arabidopsis thaliana* (Targeted identification of genes required for pollen development and function in *Arabidopsis thaliana*) **Kaiser, M.**¹, León, G.¹. Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello¹.

El desarrollo del gametofito masculino en plantas es un proceso complejo, que culmina con la producción de los granos de polen. Actualmente, nuestro conocimiento acerca de los mecanismos moleculares involucrados tanto en el desarrollo como en la función del polen es más bien escaso, principalmente, debido a la dificultad para identificar genes esenciales para estos procesos. Nuestro laboratorio ha diseñado una estrategia basada en el análisis de perfiles de acumulación de mRNAs en diferentes etapas del desarrollo del polen para identificar genes candidatos y someterlos a un análisis funcional a través de la caracterización de mutantes en ellos. Inicialmente seleccionamos 180 genes candidatos que se expresan en alguna etapa del desarrollo del polen, que no se expresan en ningún otro tejido o etapa del desarrollo y que, por lo tanto, son específicos del polen y se procedió a caracterizar plantas mutantes en cada uno de ellos. Los parámetros analizados fueron estudios fenotípicos, principalmente microscopía basada en métodos de tinción de granos de polen para análisis de morfología y desarrollo, utilizándose también la técnica de germinación in vitro para análisis de funcionalidad y estudios de estructura y elongación del tubo polínico. Hasta el momento hemos identificado que al menos un 10% de las líneas mutantes analizadas presentan fenotipo aberrante en la elongación del tubo polínico, correspondiendo a mutaciones en genes que codifican para proteínas como quinasas, oxidoreductasas y una proteína de pared celular. Financiado por proyecto FONDECYT 11080037.

PLANTAS DE ARABIDOPSIS DEFICIENTES EN EL COMPLEJO II MITOCONDRIAL PRESENTAN UNA ALTERACIÓN EN LA FUNCIÓN ESTOMÁTICA (Arabidopsis plants impaired in mitochondrial complex II present an alteration of stomatal function) **Fuentes, D.**¹, Nunes-Nesi, A.², Araujo, W.², Gómez, M.I.¹, Fernie, A.², Jordana, X.¹ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Max Planck Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Alemania².

SDH1-1 es un gen que codifica para una subunidad del complejo II mitocondrial. En nuestro grupo hemos caracterizado una línea heterocigota mutante SDH1-1/sdh1-1 que presenta aumentos en la conductancia estomática, en la densidad y en la apertura estomática. Por otro lado, se ha descrito que existen metabolitos claves, como malato citosólico, que participarían en el cierre estomático. Para determinar si la función metabólica del complejo II está involucrada en la regulación estomática, incubamos hojas de plantas silvestres y mutantes con metabolitos como malato y fumarato. Encontramos que el efecto de apertura estomática en la mutante es revertido al incubar con estos metabolitos. Esto indicaría que metabolitos sintetizados por la mitocondria serían importantes para el cierre estomático. Estudios de metabolómica muestran que aminoácidos claves del metabolismo del nitrógeno se ven disminuidos en las plantas mutantes. Para evaluar si este efecto se debe a cambios en la expresión de genes de enzimas que participan en el metabolismo del nitrógeno, analizamos por PCR en tiempo real la expresión de alguno de estos genes. Sorprendentemente, encontramos que los genes que codifican para la nitrato reductasa NIA1 y NIA 2 presentan un aumento en los niveles de transcrito en las plantas mutantes. Además, las plantas mutantes presentan un mayor tamaño que las silvestres, pero concentraciones normales de proteínas y clorofila. Estos resultados sugieren que el metabolismo del nitrógeno está alterado en una etapa inicial, para compensar los niveles de carbono. Fondecyt1060485, AT24080100. Núcleo Milenio P06-009-F.



BIOQUÍMICA CELULAR

TRANSPORTADORES DE VITAMINA C Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE GLUTATIÓN EN CÉLULAS DE SERTOLI (Vitamin C transporters and its relationship with glutathione content in Sertoli cells) **Maldonado, R.**¹, Angulo, C.², Mancilla, H.¹, Pulgar, E.¹, Villarroel, F.¹, Yañez, A.E.¹, Slebe, J.C.¹, Rivas, C.I.³, Vera, J.C.³, Castro, M.A.¹, Concha, I.I.¹. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile¹. Instituto de Química, Universidad Austral de Chile². Departamento de Fisiopatología, Universidad de Concepción³.

La supervivencia y desarrollo de las células germinales dependen del contacto con las células de Sertoli en el testículo. Vitamina C y glutatión son antioxidantes celulares potentes, esenciales para el desarrollo de las células germinales. Para estudiar el comportamiento de las células de Sertoli como el primer acercamiento hacia la caracterización celular y molecular de los transportadores de vitamina C y su relación con las distintas concentraciones de glutatión, utilizamos la línea celular 42GPA9. Análisis de RT-PCR revelaron que las células de Sertoli 42GPA9 expresan ambos sistemas de transportadores de vitamina C, lo que fue confirmado por análisis inmunocitoquímicos e inmunoblotting. Ensayos cinéticos mostraron que ambos, transportadores de ácido ascórbico (SVCTs) y transportadores facilitativos de hexosas (GLUTs), son funcionalmente activos. Además, cuando las células de Sertoli fueron tratadas con L-Butionina-Sulfoximina (BSO), inhibidor de la gama-glutamilcisteína sintetasa, demostramos que éstas presentan una menor expresión de SVCT1 en comparación con SVCT2. Se obtuvieron resultados similares cuando se analizaron secciones provenientes de testículos tratados con BSO. Todos estos resultados indican que los transportadores SVCTs expresados en células de Sertoli son activos y que existe una estrecha relación entre las concentraciones intracelulares de glutatión y la expresión de los SVCTs. (FONDECYT 1060135, DID-UACH, Beca CONICYT RM).

FUNCIÓN DE LA CHAPERONA DE HISTONAS MP62 EN LA REMODELACIÓN DE LA CROMATINA PATERNA POST FECUNDACIÓN EN ERIZOS DE MAR (Function of the histone chaperone MP62 in male chromatin remodeling post fecundation in sea urchins) **Iribarren, C.**¹, Morin, V.¹, Genevieve, A.², Puchi, M.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹. Laboratoire Arago, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI². En erizos de mar la remodelación de la cromatina paterna ocurre inmediatamente post fecundación, caracterizándose por la pérdida de las histonas de origen paterno (SpH) las cuales son reemplazadas por variantes de histonas maternales (CS). En este contexto, se ha descrito en nuestro laboratorio una cisteína proteasa que degrada selectivamente las SpH dejando intactas las histonas CS y que no puede degradar las SpH mientras están formando parte de la cromatina paterna, por lo que se requiere que sean liberadas de la cromatina para su degradación. Análisis bioinformáticos han identificado una proteína en erizos de mar denominada MP62 con alta homología a la familia nucleoplasmína, no caracterizada aun como una chaperona de histonas. Nuestro objetivo es investigar el posible rol de esta proteína como chaperona de histonas durante la remodelación de la cromatina espermática post fecundación. Mediante ensayos de descondensación de nucleosomas espermáticos in vitro utilizando extractos nucleares depletados de MP62 hemos impedido la descondensación de éstos, al suplementar el ensayo con MP62 inmunoprecipitada o recombinante, restituímos la actividad descondensante de nucleosomas. Además, al utilizar extractos citoplasmáticos (S10) hemos reconstituido los eventos que median la formación del pronúcleo paterno in vitro y al depletarlos de MP62 se impide el recambio de las SpH y la descondensación de los núcleos espermáticos. Estas evidencias confirman la participación de MP62 en la remodelación de la cromatina paterna. Beca de Doctorado CONICYT 21060893 y Beca Tesis Doctoral CONICYT 24090019.

INSULINA REGULA EL METABOLISMO ENERGÉTICO Y LA DINÁMICA MITOCONDRIAL EN EL CARDIOMIOCITO (Insulin regulates energetic metabolism and mitochondrial dynamics in cardiac myocytes) **Parra, V.**¹, Morales, C.¹, Bravo, R.¹, Zorzano, A.², Lavadero, S.¹. Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile, Chile¹. Instituto de Investigación Biomédica, Barcelona, España².

En el corazón, las mitocondrias son esenciales para la generación de ATP mediante el proceso de fosforilación oxidativa, siendo su número y estructura dependientes de la dinámica mitocondrial. En este proceso se observan eventos de fusión y fisión, en los cuales participan diversas GTPasas de alto peso molecular, incluyéndose en ellas las proteínas mitofusinas (Mfn1/2), OPA-1 y Drp-1/Fis1. Aunque insulina regula enzimas claves del metabolismo intermediario del cardiomiocito se desconoce si también controla la dinámica mitocondrial. En este trabajo se investigaron parámetros metabólicos y morfológicos de mitocondrias de cardiomiocitos de rata expuestos a insulina 10 nM por 0-24 h. Utilizando reconstrucción 3D de imágenes de microscopía confocal de cardiomiocitos tratados con Mitotracker-green se observó que insulina estimuló la fusión mitocondrial, lo que se evidencia a través de un aumento del volumen mitocondrial promedio y una disminución del número de partículas mitocondriales a las 3 h de tratamiento. Parámetros metabólicos como el potencial de membrana mitocondrial y el contenido intracelular de ATP también aumentaron durante este mismo período, siendo estos incrementos bloqueados al utilizar un adenovirus antisentido contra la proteína Mfn2. Se establece así, por primera vez, una relación directa entre la morfología y la función mitocondrial, siendo ambos procesos regulados por insulina. Parra V. es becaria CONICYT. FONDAP 1501006, FONDECYT 1080436, MESESUP UCH0802, Proyecto Colaboración Internacional PCI2007 A7 0515, Ministerio de Educación y Ciencia, España.

PARTICIPACIÓN DE TonEBP EN LA MUERTE DEL CARDIOMIOCITO INDUCIDA POR ESTRÉS HIPEROSMÓTICO (Participation of TonEBP in cardiomyocyte death induced by hyperosmotic stress) **Chiong, M.**¹, Navarro, P.¹, Ocaranza, M.P.², Jalil, J.², Kwon, H.M.³, Lavadero, S.¹. Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile¹. Facultad Medicina, P. Universidad Católica de Chile². Department of Medicine, University of Maryland, USA³. TonEBP es un factor transcripcional clave en la adaptación de las células a hipertonicidad. En el infarto cardiaco, coma diabético y shock séptico se produce hiperosmolaridad. Debido a que la hiperosmolaridad induce muerte del cardiomiocito por apoptosis, postulamos que los mecanismos osmoreguladores dependientes de TonEBP podrían regular la supervivencia celular. Los resultados mostraron que la hipertonicidad activa al TonEBP cardiaco, aumentando tanto sus niveles de mRNA y proteína como de estimular la expresión de los mRNAs y proteínas de sus genes blancos (aldosa reductasa y Hsp-70). En un modelo de infarto al miocardio producido por ligación de la arteria coronaria descendente se indujo en el tejido vecino al sitio del infarto, un aumento en los niveles proteicos de TonEBP, sugiriendo su activación por el infarto. Altos niveles de TonEBP logrados por sobreexpresión adenoviral pero no de un dominante negativo indujo la muerte del cardiomiocito. La sobreexpresión de TonEBP no protegió a los cardiomiocitos frente a la muerte inducida por estrés hiperosmótico. Se concluye que los cardiomiocitos responden a condiciones de hiperosmolaridad induciendo TonEBP, pero este factor de transcripción no está involucrado en la supervivencia del cardiomiocito expuesto a estrés hiperosmótico. Proyectos FONDAP 15010006 y MESESUP UCH0802.

LOCALIZACIÓN INTRACELULAR DE LAS ISOFORMAS RIC-8A Y RIC-8B DURANTE LA MITOSIS (Intracellular localization of RIC-8A and RIC-8B isoforms during mitosis) **Campos, T.¹, Pastén, P.¹, Beyer, A.¹, Olate, J.¹, Hinrichs, M.V.¹** Laboratorio de Genética Molecular. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

RIC-8 es una proteína citosólica que se encuentra altamente conservada en organismos eucarióticos y que posee actividad GEF, es decir la capacidad de estimular el intercambio de GDP por GTP, en diversas subunidades $G\alpha$. Además, se ha demostrado en *C. elegans* y *Drosophila*, que RIC-8 participa en los procesos de sinapsis y división celular asimétrica. En organismos superiores se han encontrado 2 isoformas, codificadas por distintos genes, denominadas RIC-8A y RIC-8B, que a pesar de compartir una alta similitud de secuencia, interactúan y activan diferentes proteínas $G\alpha$. Mientras RIC-8A interactúa con $G\alpha_q$, $G\alpha_o$ y $G\alpha_i$, RIC-8B lo hace con $G\alpha_q$ y $G\alpha_s$. En nuestro laboratorio, se clonó Ric-8 desde ovocitos de *Xenopus laevis* (xRic-8), y buscando proteínas interactoras, se encontró por análisis de doble híbrido, que éste se asocia a dos proteínas, INCENP y Dasra, que forman parte del complejo CPC, el cual juega un rol fundamental durante la mitosis. En este trabajo, nuestro objetivo fue estudiar la localización subcelular de RIC-8A y RIC-8B humanas y determinar su interacción con la proteína hINCENP, componente del CPC. Para ello se estudió la interacción *in vivo* entre hRIC-8A o hRIC-8B e hINCENP mediante doble híbrido y co-inmunoprecipitación, observándose interacción de hINCENP sólo con la isoforma hRIC-8B. Además, se analizó la localización subcelular de hRIC-8A y hRIC-8B mediante ensayos de inmunocitoquímica en distintas etapas de la mitosis, en células HeLa sincronizadas, encontrándose una interesante localización diferencial de estas dos proteínas durante metafase y anafase. Fondecyt 1090150.

hRIC-8A ES TRANSLOCADO DESDE EL CITOSOL A LA MEMBRANA PLASMÁTICA EN RESPUESTA A ISOPROTERENOL, CARBACOL Y SOMATOSTATINA (hRIC-8A is translocated from the cytosol to the plasma membrane in response to isoproterenol, carbachol and somatostatin) **Pastén, P.¹, Campos, T.¹, Olate, J.¹, Hinrichs, M.V.¹** Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica¹.

Ric-8 es una familia de proteínas descubiertas inicialmente en *C. elegans*, que cumplen un rol importante en la señalización no canónica mediada por proteínas G. Dado que RIC-8 es una proteína citosólica y que tiene la capacidad de interactuar con diferentes tipos de subunidades $G\alpha$, quisimos comparar la localización subcelular de esta proteína en condiciones no estimuladas y tratadas con agonistas para distintos GPCRs. Para ello se transfectaron células HEK293T, las cuales fueron incubadas con y sin Isoproterenol, Carbacol y Somatostatina, ligandos que se unen a receptores que activan a las proteínas Gs, Gq y Gi respectivamente. Posteriormente, se estudió la localización subcelular de hRIC-8A mediante Inmunocitoquímica y Western Blot de fracciones citoplasmáticas y de membranas. Los resultados obtenidos indican que RIC-8A no se encuentra asociado a la membrana plasmática en condiciones no estimuladas y que transloca a la membrana al ser activadas las diferentes proteínas G por sus respectivos GPCRs. Ello concuerda con resultados publicados, que indican que Ric8 sólo puede interactuar con las subunidades $G\alpha$ monoméricas y no con el heterotrímero. Para determinar si la traslocación a la membrana se debía a la interacción de hRIC-8A con las distintas subunidades $G\alpha$ mencionadas anteriormente, se sobreexpresaron las subunidades $G\alpha_s$, $G\alpha_q$ y $G\alpha_i$, observándose también la traslocación de hRIC-8A bajo estas condiciones. Fondecyt 1090150.

INHIBICIÓN DE CDK5 PREVIENE RETRACCIÓN NEURÍTICA CAUSADA POR PRODUCTOS SECRETADOS POR LINFOCITOS INFECTADOS POR HTLV-I (Inhibition of CDK5 prevents neurite retraction caused by secreted products of HTLV-I infected lymphocytes) **Maldonado, H.¹, Pando, M.E.¹, Ramírez, E.^{2,3}, Kettlun, A.M.¹, Collados, L.¹, Cartier, L.⁴, Valenzuela, M.A.¹** Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹. ICBM, Programa Virología Facultad de Medicina, Universidad de Chile². ISP³. Departamento de Ciencias Neurológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile⁴.

La paraparesia espástica tropical afecta a axones de neuronas motoras del haz corticoespinal, asociada a infección con el virus HTLV-I que no infecta neuronas. Tau es la principal proteína asociada a microtúbulos, siendo regulada por fosforilación. Estudios en líquido cefalorraquídeo de pacientes muestran hiperfosforilación de Tau en T181; residuo fosforilado por GSK3- β y CDK5. Proponemos que productos secretados por linfocitos infectados con HTLV-I activarían estas quinasas conllevando a hiperfosforilación de Tau y retracción neurítica. Células SH-SY5Y diferenciadas se trataron con medio de cultivo de células MT-2 (poseen el provirus inserto y secretan Tax), como control se utilizó medio de cultivo de células K562. Se midió presencia de Tax en medio MT-2, largo neurítico, fosforilación de Tau en T181, S199, S205, S261, S256, S356, S396, S400, S404, S409, S422, participación de GSK3- β y CDK5 mediante el uso de inhibidores LiCl, TDZD-8, roscovitina y fosforilaciones de GSK3- β (S9, forma inactiva y Y216, activa), niveles de β -Catenina (Sustrato GSK3- β), p35, p25 (activadores CDK5) y CDK5. Se observó retracción neurítica junto con hiperfosforilación de Tau solo en el residuo de T181. Tanto los niveles de fosforilación de GSK3- β en S9 y Y216 como los de β -Catenina fueron constantes, además la inhibición de GSK3- β no fue capaz de prevenir la retracción neurítica. En cambio, la inhibición de CDK5 si previno el efecto de medios de cultivo de MT-2. Los niveles de sus activadores muestran un ligero aumento de p25 y disminución de p35. Fondecyt 1080396.

COMUNICACIONES LIBRES PANELES

1 - 5	ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS
6 - 9	BIOINFORMÁTICA
10 - 17	ENZIMOLOGÍA
18 - 22	GENÓMICA Y PROTEÓMICA
23 - 43	EXPRESIÓN GÉNICA
44 - 48	GENÉTICA MOLECULAR
49 - 66	BIOQUÍMICA DE PLANTAS
67 - 69	BIOQUÍMICA DE HONGOS
70 - 74	MICROBIOLOGÍA
75 - 82	VIROLOGÍA
83 - 90	BIOMEDICINA
91 - 96	BIOQUÍMICA CELULAR



1. IDENTIFICACIÓN DE SITIOS REGULADORES EN EL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT1 (Identification of regulatory sites on the GLUT1 glucose transporter) **Dagnino, J.**¹, Pérez, A.¹, Ojeda, P.¹, Vera, J.C.², Reyes, A.M.¹ Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile¹. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile².

En la mayor parte de las células animales el transporte basal de glucosa es facilitado por el transportador de glucosa GLUT1. La actividad funcional de GLUT1 es regulada por sustancias naturales y sintéticas, cuya estructura no tiene relación con los sustratos del transportador. Esto último sugiere que existen en esta proteína sitios de unión para ligandos, diferentes de los sitios implicados al transporte de hexosas, que cumplen una función alostérica. En la proteína existen 2 regiones que participan en la conformación de algunos de estos sitios: el dominio A (G111-S118) que muestra una orientación exofacial, mientras que el dominio B (G332-L338) se orienta hacia la cara endofacial de la proteína. Nos propusimos analizar la sensibilidad de las mutantes G111A, G116A, K117Q, K117R, T335L y L338T frente a inhibidores de GLUT1 que se unen en la superficie endofacial (citocalasina B) y exofacial (quercetina). Las mutantes se prepararon sobre el constructo GLUT1-GFP, para evaluar la localización subcelular de las proteínas mutadas y fueron expresadas en células HEK-293 por transfección usando lipofectamina. Algunas mutantes endofaciales fueron insensibles a inhibición por citocalasina B, mientras otras exofaciales fueron refractarias a la quercetina. Los resultados confirman que estos dominios forman parte de sitios de unión de inhibidores. Financiado por FONDECYT 1060198.

3. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE VARILLAS DE FICOBILISOMAS POR TÉCNICAS DE DISOCIACIÓN PARCIAL Y ASOCIACIÓN DE FICOBILIPROTEÍNAS (Obtention and characterization of phycobilisomes rods by partial dissociation and by association of phycobiliproteins) **Mella H. C.**¹, Martínez-Oyanedel, J.¹, Bunster B., M.¹. Laboratorio de Biofísica Molecular, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

Algas rojas y cianobacterias utilizan complejos proteicos denominados ficobilisomas para ampliar el rango de longitudes de onda absorbidas y por lo tanto para captar y conducir luz hasta los sistemas de reacción fotosintéticos con una eficiencia cercana al 100%. Estos complejos están formados por ficobiliproteínas, que al ensamblarse originan un macrocomplejo en el que se distingue un core formado por aloficocianina, próximo a los centros de reacción y varillas ancladas al core proyectadas hacia la periferia. Las varillas, en el alga roja *Gracilaria chilensis*, están formadas por ficocianina y ficoeritrina, sin embargo no se conoce su composición polipeptídica exacta, existiendo solo el modelo de una varilla teórica sobre la cual se han postulado mecanismos de conducción de luz. Considerando la importancia de explicar la eficiencia del mecanismo de transferencia de energía en ficobilisomas, este trabajo involucra el aislamiento de varillas de ficobilisomas de *Gracilaria chilensis* y su caracterización tanto estructural como funcional, utilizando técnicas de microscopía electrónica de transmisión y técnicas espectroscópicas. Estos estudios indican que los ficobilisomas de esta alga presentan un core de tres cilindros de aloficocianina y 4-6 antenas con 4 hexámeros cada una, con dimensiones de 125 Angstrom x 291 Angstrom, concordante con el tamaño de un modelo tridimensional construido con dos hexámeros de Ficocianina y dos hexámeros de Ficoeritrina. Estos resultados son un gran aporte para validar el mecanismo de transferencia de energía a través de los ficobilisomas. Proyecto FONDECYT 1080267.

2. GENERACIÓN DE VERSIONES MUTADAS DEL RECEPTOR DE VITAMINA D PARA EVALUAR LA INTERACCIÓN DIFERENCIAL CON LOS COACTIVADORES SRC-1 Y DRIP205 DURANTE RESPUESTA A 1 α ,25-DIHIROXIVITAMINA D3 EN CÉLULAS OSTEBLÁSTICAS.

(Generation of mutated versions of the vitamin D receptor to determine the role of the differential interaction of coactivator SRC-1 and DRIP205 in response to 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 in osteoblastic cells.) **Merino, P.**¹, Arriagada, G.¹, Montecino, M.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 tiene una función moduladora de la expresión de genes durante la diferenciación ósea a través de su unión al receptor de vitamina D (VDR) y la posterior formación de un complejo regulador junto a coactivadores transcripcionales, los cuales se unen al VDR de forma ligando-específica. Nuestro laboratorio demostró que la fosforilación del residuo serina 208 de VDR, por caseína quinasa CKII, aumenta la afinidad de este receptor por el coactivador DRIP205, sin afectar la del coactivador SRC-1. En este trabajo, se busca diseñar herramientas para estudios que permitan definir el rol de la interacción diferencial de VDR con sus coactivadores DRIP205 y SRC-1 durante la respuesta transcripcional a 1 α ,25(OH)₂D3 en células óseas. Por ello se generó mutantes del receptor en el residuo serina 208, cambiándolo por ácido aspártico o ácido glutámico, simulando la carga negativa de la fosforilación. Las versiones mutadas de VDR fueron clonadas en el vector pEGFP-C1, de manera que el receptor quede acoplado a la proteína fluorescente verde. Por medio de sobreexpresión transitoria y posterior co-inmunoprecipitación, se analizó la interacción de las versiones mutadas de VDR con ambos coactivadores y se evaluó cómo la presencia de una carga negativa, que simula una fosforilación, modula la afinidad del receptor por DRIP205. Nuestros resultados sostienen un modelo en el cual la unión preferencial de VDR a coactivadores como SRC-1 y DRIP205, en células osteoblásticas, puede ser regulada mediante vías de señalización que activan a CKII. FONDECYT 1095075.

4. IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS QUE INTERACCIONAN CON RIC-8B HUMANO POR EL MÉTODO TAP-TAG (Identification of proteins that interact with human RIC-8B through the TAP-TAG method) **Escobar, D.**¹, Campos, T.¹, Hinrichs, M.V.¹, Olate, J.¹ Laboratorio de Genética Molecular. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

Resultados previos de nuestro laboratorio revelaron que la proteína RIC-8B, la cual posee actividad GEF (Guanine Exchange Factor) para distintas subunidades G α , está involucrada en el control de la señalización de G/S y de la etapa de mitosis del ciclo celular. Debido a estos hallazgos, nos interesa conocer la asociación de proteínas-blancas con RIC-8B, con el objetivo de identificar nuevos complejos proteicos asociados a esta proteína y además, confirmar su interacción con algunos de los componentes de estos complejos cuya función ya ha sido determinada. Para ello se utilizó el cDNA codificante para hRIC-8B anteriormente clonado en el laboratorio, el cual fue subclonado en el vector de expresión de mamíferos pNTAP-B que permite la obtención y purificación de complejos proteicos *in vivo* asociados a la proteína de interés. Se comprobó la correcta inserción del gen hRIC-8B en el vector pNTAP-B a través de secuenciación y la correcta expresión de esta proteína de fusión en células HEK 293T a través de Western blot. La búsqueda de complejos proteicos asociados a hRIC-8B fue realizada mediante la comparación de los patrones electroforéticos de la purificación de la proteína en estudio y el control, en ausencia de hRIC-8B, donde se encontró un patrón diferente después de la purificación. Finalmente, se determinó la presencia de G α S en los extractos purificados con hRIC-8B, comprobándose por primera vez *in vivo* la interacción específica de RIC-8B humano y G α S. Proyecto FONDECYT 1090150.

5. ESTRUCTURA DEL COMPLEJO FRUCTOSA-6-P/ FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. IMPORTANCIA DE RESIDUOS CONSERVADOS EN LA UNIÓN DEL SUSTRATO ACEPTOR DE FOSFORILO.

(Crystal structure of the fructose-6-P/ phosphofructokinase-2 complex from *E. coli*. Importance of conserved residues in the binding of the phosphoryl acceptor substrate.) **Caniuguir, A.¹**, Cabrera, R.¹, Pereira, H.², Garrat, R.², Guixé, V.¹, Babul, J.¹ Laboratorio Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad Ciencias, Universidad de Chile¹. Centro de Biotecnología Molecular Estructural, Instituto de Física de Sao Carlos, Universidad de Sao Paulo- Brasil². La Pfk-2 de *E. coli* pertenece a la superfamilia riboquinasa. Estas enzimas catalizan la fosforilación de un hidroxilo secundario en azúcares fosforilados y no fosforilados. El análisis de los patrones de secuencia conservados entre miembros de la familia permite distinguir motivos comunes en todos los miembros y otros que sólo son comunes en grupos de enzimas con la misma especificidad. Para entender la interacción de la enzima con el sustrato aceptor de fosforilo y poder estudiar la importancia de los residuos conservados en ambos tipos de motivos, se cristalizó la Pfk-2 en presencia de fructosa-6-P por el método de difusión de vapor en gota suspendida. Los cristales difractaron hasta una resolución de 2.0 Angstrom. La dilucidación estructural de la enzima confirma estudios de mutagénesis sitio-específica, donde se evaluó el papel de dos residuos: D256 del motivo GAGD, conservado en todos los miembros de la familia, y que en la estructura se encuentra interactuando con el grupo hidroxilo del sustrato azúcar; y R90 del motivo TRXXI/L/V, conservado en miembros de la familia que son específicos para azúcares fosforilados, y que en la estructura se observa interactuando electrostáticamente con el grupo fosfato del sustrato azúcar. Los efectos de las mutaciones D256N y R90Q sobre los parámetros cinéticos de la enzima son consistentes con las interacciones observadas en la estructura. Por otra parte, se comparará la estructura del complejo fructosa-6-P/Pfk-2 con las de otros miembros de la superfamilia (Fondecyt 1090336).

7. INTERACCIONES ATÓMICAS EFECTIVAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE INTERFASES LIGANDO-PROTEÍNA

(Effective atomic interactions for the characterization of protein-ligand binding interfaces) **Slater, A.W.¹**, Ferrada, E.², Melo, F.¹ Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología¹. University of Zurich, Department of Biochemistry².

Nuestra comprensión de la relación estructura función en proteínas puede ser mejorada a través del estudio de las interfases interatómicas proteína-ligando. En este trabajo describimos un método para determinar interfases intermoleculares efectivas entre una proteína y su ligando. Las interfases están compuestas de aquellos átomos que tengan más probabilidad de interactuar físicamente entre sí, considerando otros átomos que pudiesen enmascarar la interacción. La identificación de interacciones efectivas se efectuó utilizando un descriptor geométrico simple. Una interfaz intermolecular puede ser representada mediante matrices de contactos efectivos. Una métrica fue derivada para comparar esta clase de matrices, con el objetivo de clasificarlas interfases de complejos proteína-ligando. Esta metodología fue probada en un conjunto de 372 complejos ATP-proteína. Como resultado se obtuvo una clasificación más robusta comparada con la generada por otros métodos que emplean agrupamiento basado en análisis conformacionales de ligandos. Nuestros hallazgos muestran que existe una gran diversidad de modos de unión entre ATP y proteína. Finalmente, hemos identificado casos de ligandos en diferente conformación unidos por interfases efectivas similares, así como casos de ligandos en la misma conformación unidos por interfases efectivas distintas. Agradecimientos a proyecto FONDECYT 1080158.

6. ESTUDIO DE DINÁMICA MOLECULAR SOBRE LA RECTIFICACIÓN OPUESTA EN CANALES Kin Y Kout DE *Arabidopsis thaliana*

(Molecular Dynamics study on opposite rectification in *Arabidopsis thaliana* Kin and Kout channels) **Morales-Navarro, S.¹**, González, W.¹, Dréyer, I.², González, F.D.¹ Centro de Bioinformática y Simulación Molecular - U. de Talca¹. Universitat Potsdam, Institut für Biochemie und Biologie, Heisenberg-Gruppe Biophysik und Molekulare Pflanzenbiologie, Germany².

Diversos estudios experimentales han confirmado el rol de los canales de potasio dependientes de voltaje (Kv) en la homeostasis iónica de las células vegetales. Los canales Kv en plantas comprenden canales rectificadores de entrada (Kin), encargados del ingreso de iones potasio (K⁺) hacia las células vegetales, así como canales rectificadores de salida (Kout) que median la liberación de K⁺ hacia el apoplasto. Los canales Kin y Kout de plantas comparten alrededor de un 40 % de identidad y una topología de membrana similar. A pesar de su similitud estructural, la activación de los canales Kin y Kout presenta notables diferencias. Los canales Kin se activan solamente mediante variaciones del voltaje de membrana, mientras que los canales Kout se activan principalmente cuando la concentración extracelular de K⁺ es baja, lo que regula su dependencia de voltaje. Con el fin de contribuir en la comprensión del mecanismo molecular que subyace a estas diferencias, se realizaron simulaciones de dinámica molecular de KAT1 y SKOR, un canal Kin y un canal Kout de *Arabidopsis thaliana* respectivamente. El análisis de las simulaciones mostró que interacciones entre aminoácidos del extremo N-terminal del segmento transmembranal S5 de los canales con aminoácidos del extremo C-terminal del segmento transmembranal S6 podrían estar relacionados con las diferencias en la activación dependiente de voltaje y de la concentración de K⁺ extracelular entre los canales Kin y Kout.

Agradecimientos: proyecto CONICYT AT24071103.

8. UN NUEVO PROGRAMA PARA EL ESTUDIO DE INTERACCIONES ÁTOMO-ÁTOMO EN INTERFASES DE COMPLEJOS CON PROTEÍNA

(A new software to study atom-atom interactions in protein complex interfaces) **Norambuena, T.¹**, **Melo, F.¹**. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología¹.

La unión entre proteína y otras moléculas es esencial en muchos procesos biológicos, e.g. la interacción entre ácidos nucleicos y proteínas constituye el evento principal tanto en la regulación de la transcripción como de la traducción. En este trabajo presentamos un nuevo software para el estudio de interacciones entre proteínas y otras moléculas, tales como ADN y ARN, a nivel atómico. Nuestro programa fue desarrollado para el análisis de interfases moleculares y para comprender mejor los distintos modos de unión. El programa está compuesto por aplicaciones principales y secundarias escritas en C++. Estas aplicaciones toman archivos de estructura PDB como entrada y son bastante flexibles, pues permiten al usuario personalizar muchos parámetros. Existen dos aplicaciones principales: una se utiliza para analizar cualquier tipo de contacto átomo-átomo, donde el usuario puede definir tipos atómicos, centroides y rangos de distancia; en la otra aplicación, el usuario además puede definir el tipo de interacción que cualquier par de átomos pueda tener. Estos análisis pueden llevarse a cabo incluyendo moléculas de agua y además interacciones atómicas efectivas en la interfase estudiada. De acuerdo a las opciones seleccionadas por el usuario, la salida del programa pueden ser matrices de contacto y archivos con información detallada acerca de las interacciones. Hemos aplicado este programa para el estudio de interfases entre proteína y ácidos nucleicos, con lo cual hemos generado una nueva clasificación de complejos ADN-proteína y una base de datos disponible en Internet.

9. DETERMINACION DE LA HIDROFOBICIDAD AMBIENTAL DE AMINOACIDOS EN PROTEÍNAS Y ANALISIS DE ACUERDO A ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL. (Determination of environmental hydrophobicity of amino acids in proteins and their analysis by types of structural organization) **Vorphal, A.**¹, Jaña, N.¹, Bunster, M.¹ Laboratorio de Biofísica Molecular, Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

La estructura tridimensional de proteínas depende de su secuencia y de las propiedades físicoquímicas de los aminoácidos. La determinación de la hidrofobicidad ambiental que considera para cada aminoácido la suma de los índices de hidrofobicidad de Tanford y Jones en una esfera de 8 Angstrom de radio tal como fuera definida por Ponnuswamy, fue realizada previamente en nuestro laboratorio considerando una base de datos de 60 proteínas clasificadas según su pertenencia a las clases estructurales, α , β , $\alpha + \beta$, α/β . Este trabajo considera el cálculo de las hidrofobicidades ambientales de los aminoácidos considerando una base de datos de 7000 proteínas contenidas en el Protein Data Bank, clasificadas de acuerdo a la clase estructural a la que pertenecen, no redundantes y resueltas con resoluciones menor a 2.5 Angstrom. Los datos obtenidos se analizaron considerando la distribución de frecuencias; revelándose diferencias en la distribución aminoacídica promedio por clase. El análisis de hidrofobicidad ambiental aplicado ha mostrado tendencias de distribución en rangos definidos para las distintas clases estructurales. Así, se mantiene el carácter más hidrofóbico de aminoácidos como LIFMVA y menos hidrofóbico para DENSQ, en todas las clases estructurales estudiadas, sin embargo la hidrofobicidad ambiental para aminoácidos tales como GKRY varían de acuerdo a la clase estructural. Se exploró la aplicación de este análisis de acuerdo a arquitectura, tipos de plegamientos o dominios, lo que puede abrir perspectivas para complementar metodologías de predicción estructural a partir de secuencias.

11. PAPEL DE METALES DIVALENTES EN EL MECANISMO CATALÍTICO Y REGULACIÓN DE LA GLUCOQUINASA ADP DEPENDIENTE DE *Pyrococcus furiosus*. DETERMINANTES ESTRUCTURALES DE LA INTERACCIÓN CON EL METAL. (Role of divalent metals in the catalytic mechanism and regulation of the ADP-dependent glucokinase from *Pyrococcus furiosus*. Structural determinants of metal interaction.) **García, I.**¹, Guixé, V.¹ Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹. Algunas arqueas del grupo *Euryarchaeota* presentan una vía modificada de Embden-Meyerhof, como la descrita en *Pyrococcus furiosus*, el que posee una glucoquinasa dependiente de ADP (pfGK). La determinación de la estructura tridimensional de la enzima permitió clasificarla como un miembro de la superfamilia Riboquinasa, cuyos miembros poseen una estricta dependencia de un catión divalente para la catálisis. La pfGK puede utilizar diversos metales divalentes para la catálisis, tales como Mg^{+2} , Co^{+2} y Mn^{+2} , con valores de K_m similares para los distintos complejos metal-nucleótido. Al aumentar la concentración libre de estos cationes se observa un efecto inhibitorio sobre la actividad enzimática ($Mg^{+2} < Co^{+2} < Mn^{+2}$). Mediante el programa Dynafit se determinó que el mecanismo de inhibición de estos cationes corresponde a un modelo de inhibición no-competitivo parcial. Por otra parte, ADP libre presenta una inhibición de tipo competitiva con respecto al complejo metal-nucleótido. Uno de los motivos conservados que identifica a miembros de esta familia es el motivo NXXE, relacionado con la unión de Mg^{+2} , el que está presente en el sitio activo de todos los miembros analizados. Para evaluar el papel del residuo glutámico del motivo NXXE en la catálisis, éste se sustituyó por glutamina. La mutante E295Q presenta una disminución de 150 veces en la K_{cat} y un aumento de 14 veces en la K_m para MgADP. Los resultados muestran que el residuo E295 es crucial para la interacción y estabilización del complejo metal-nucleótido (Fondecyt 1070111).

10. PAPEL DE CATIONES DIVALENTES EN LA CATÁLISIS DE LA GLUCOQUINASA DEPENDIENTE DE ADP DE *Thermococcus litoralis*. DETERMINANTES MOLECULARES DE LA ESTABILIZACIÓN DEL COMPLEJO ADP-METAL. (Role of divalent cations in the catalysis of ADP-dependent glucokinase from *Thermococcus litoralis*. Molecular determinants of ADP-metal complex stabilization) **Rivas-Pardo, J.A.**¹, Guixé, V.¹ Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹. Varias arqueas hipertermófilas presentan una versión modificada de la vía de Embden-Meyerhof, donde las actividades glucoquinasa y fosfofructoquinasa son dependientes de ADP. En el caso de *Thermococcus litoralis*, la fosforilación de glucosa es realizada por una glucoquinasa dependiente de ADP que pertenece a la superfamilia Riboquinasa. Aún cuando se conoce la estructura tridimensional de la enzima, no existen estudios sobre el mecanismo y aminoácidos involucrados en la estabilización de los ligandos. En este trabajo investigamos el papel del residuo E308, el cual se encuentra en el motivo NXXE, altamente conservado en los miembros de la superfamilia Riboquinasa. Este motivo ha sido vinculado con la estabilización del metal empleado en la catálisis. Experimentos de especificidad de metal muestran que la enzima utiliza Mg^{2+} , Mn^{2+} y Co^{2+} con valores de K_m similares para los distintos complejos metal-nucleótido. Altas concentraciones de estos metales inhiben la catálisis en distinta magnitud. Estudios sobre el mecanismo de inhibición por los metales libres, muestran que se trata de una inhibición mixta parcial con respecto al complejo ADP-metal, en tanto que ADP libre presenta una inhibición de tipo competitiva para este ligando. Experimentos de titulación calorimétrica, no mostraron diferencias significativas en la unión del complejo ADPMg a la enzima libre, entre la enzima silvestre y mutante. Sin embargo, los cambios en las constantes cinéticas observados para la enzima mutante, resaltan la importancia de este residuo en la estabilización del complejo ADP-metal en el complejo catalítico (FONDECYT 1070111).

12. CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES CINÉTICAS Y ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO DE LA ENZIMA VpAAT1 DE *Vasconcellea pubescens* (Characterization of the kinetic properties and substrate specificity of the enzyme VpAAT1 from *Vasconcellea pubescens*) **Morales-Quintana, L.**¹, Fuentes, L.¹, Gaete-Eastman, C.¹, Herrera, R.¹, Moya-León, M.A.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca¹.

El aroma es un carácter complejo, determinado por compuestos volátiles de bajo peso molecular. En *Vasconcellea pubescens* el aroma se debe principalmente a ésteres, generados mediante reacciones de esterificación entre alcoholes y acil-CoAs, catalizadas por la enzima Alcohol acil transferasa (AAT). Para conocer el mecanismo molecular de acción de la enzima presente en frutos de papaya chilena (*V. pubescens*) se utilizó una AAT recombinante (VpAAT1) previamente expresada en levaduras. Además, utilizando modelamiento comparativo se construyó un modelo estructural de la enzima y mediante estudios de docking molecular se exploró las conformaciones de interacción entre la proteína y sus ligandos. Los ensayos con la proteína recombinante mostraron un aumento en la actividad enzimática de VpAAT1 en correlación con la complejidad molecular de los sustratos, alcoholes y/o acil-CoAs. Ensayos cinéticos y de docking indican que la enzima tiene una mayor actividad al formar bencil acetato, observándose una mayor afinidad por el acetylCoA que por bencil alcohol. Los resultados sugieren que la conformación más estable del complejo se produciría uniendo primero el acil-CoA a la proteína, así este cambio conformacional permite el ingreso del alcohol. Financiado por Proyecto PBCT Anillo (ACT-41). L.M.-Q. agradece beca Doctoral Conicyt.

13. CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DE LA GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA DE *Escherichia coli* (Kinetic characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Escherichia coli*) **Olavarría, K.¹, Valdés, D.¹, Matsuda, L.¹, Cabrera, R.¹** Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

La reacción catalizada por la glucosa-6P deshidrogenasa (G6PDH) se ha considerado como una de las principales fuentes de producción de NADPH en distintos organismos. En este trabajo se realizaron pruebas de Selwyn, a 25°C y 37°C, para la G6PDH de *Escherichia coli*. La enzima no mostró inactivación, durante al menos 5 minutos de medición, en concentraciones por debajo de 150 pM. Adicionalmente, se determinó la dependencia de K_m y V_{max} aparentes de cada sustrato con la concentración del co-sustrato a 37°C, cuidando no superar el 1% de sustrato consumido para garantizar condiciones de velocidad inicial. Se estudio también la inhibición por el producto NADPH. La unión del NADP provocó una disminución del 10% de la fluorescencia intrínseca de la enzima sin cambios en V_{max} . Utilizando NAD⁺ como cofactor, se midieron los valores de las constantes cinéticas aparentes a 37°C. Finalmente, se purificó y se caracterizó los parámetros cinéticos aparentes para una variante de esta enzima con cola de histidina diseñada para mejorar el rendimiento de la purificación. Sin embargo, esta forma de la enzima muestra aumentos en los valores de K_m para ambos sustratos. Proyecto FONDECYT 11080290.

15. OXIDO NÍTRICO INCREMENTA LA ACTIVIDAD DE ARGINASA II EN CÉLULAS ENDOTELIALES AISLADAS DE VASOS UMBILICALES

(Nitric oxide increases the activity of arginase II in endothelial cells from umbilical vessels) **Krause, B.¹, Prieto, C.¹, Paula, G.¹, Sobrevia, L.¹, Casanello, P.¹.** Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) and Perinatology Research Laboratory (PRL), Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Arginases hydrolyze L-arginine, and have been implicated in the regulation of nitric oxide synthases (NOS) activity in the immune and vascular systems. Arginase-II is the main isoform expressed in human endothelium, however the mechanisms that regulate its activity remain unknown. Recently, it has been shown that the catalysis of human arginase-I is increased by nitrosylation of two cysteine residues (C168 and C303), showing that arginases can be activated by NO production. Aims. We compared the peptide sequence of human arginases and determined the effect of NO on arginase activity in human endothelial cells. Methods. Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were obtained by digestion with collagenase (0.2mg/ml) and cultured at 37°C. Arginase I and II expression was determined by Western blot. Arginase activity was assayed measuring the urea production in the presence of sodium-nitroprussiate (SNP). Alignment of the peptide sequences for human arginases was done using Blastp. Results. Alignment of arginases shows that C168 of arginase-I is conserved in arginase-II (C187) within a similar motif (Pro-Cys-Ile-Ser). In HUVEC, arginase-II is the main isoform expressed. The NO donor, SNP significantly increased the arginase activity (~50%) in a concentration dependent manner (0.1-10 μ M) with a maximum effect at 10 μ M and an EC50 of 0.11 μ M. Conclusions. Arginase-II shows a putative cysteine residue for nitrosylation and its activity is increased by NO in HUVEC. This suggests a new feedback mechanism controlling NOS activity. FONDECYT1070865/1080534. BK & CP hold a CONICYT-PhD fellowship.

14. CARATERIZACIÓN CINÉTICA DE LA ARGINASA DE *Bacillus caldovelox* Y EFECTO DE MUTACIONES EN UN SITIO ALOSTÉRICO PARA ARGININA (Kinetic characterization of *B. caldovelox* arginase and effect of mutations at an allosteric site) **García, D.A.¹, Uribe, E.¹, Carvajal, N.¹** Depto. de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Cs. Biológicas, Universidad de Concepción¹.

La arginasa cataliza la hidrólisis de L-arginina en L-ornitina y urea, y requiere de Mn^{2+} para su acción catalítica. Recientemente, demostramos la importancia de un motivo C-terminal en forma de S (especialmente de una Arg-308) en la zona intermonomérica, en las propiedades estructurales y cooperativas de la arginasa humana. La arginasa de *B. caldovelox* no contiene un residuo equivalente a Arg-308, aunque cristales generados en presencia de arginina, muestran una arginina exógena interaccionando con Asp-199 y Glu-256. Esta arginina actuaría como activador alostérico. Dado que los residuos equivalentes en la arginasa humana interaccionan con Arg-308, en este trabajo caracterizamos cinéticamente la arginasa de *B. caldovelox* y analizamos el postulado sitio alostérico, generando las mutantes D199N y E256Q. Ninguna de las mutaciones afectó el tamaño molecular de la enzima (180 kDa), o su interacción con el Mn^{2+} , pero se produjeron cambios significativos en su comportamiento cinético. Al pH óptimo (9,5), la enzima silvestre presentó un comportamiento hiperbólico ($K_m = 3.5$ mM), mientras que las especies mutantes presentaron una respuesta cooperativa para el sustrato. Reemplazos mutagénicos equivalentes en la arginasa humana, generan especies monoméricas y de comportamiento cinético hiperbólico. Sugerimos que la unión de arginina al sitio alostérico de la enzima de *B. caldovelox* (como activador alostérico), generaría una conformación no cooperativa para el sustrato. Al mutar los ligandos para el efector, se anularía su acción alostérica, y la enzima bacteriana expresaría su respuesta cooperativa al sustrato arginina. Proyecto Fondecyt 1070467.

16. COMPLEJO ATP-FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E coli*: PAPEL DE LAS CONFORMACIONES ALTERNATIVAS DEL ATP ALOSTÉRICO EN LAS PROPIEDADES REGULATORIAS DE LA ENZIMA (ATP-*E. coli*-phosphofructokinase-2 complex: role of the alternative conformations of the allosteric ATP on the regulatory properties of the enzyme) **Baez, M.¹, Babul, J.¹** Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile¹.

La estructura cristalográfica del complejo ATP-fosfofructoquinasa-2 muestra que el ATP alostérico está unido en dos conformaciones alternativas: una donde la adenina interactúa con el anillo de la Tyr23 (Tyr-Ade) y otra donde forma enlaces de hidrógenos con la adenina del ATP presente en el sitio catalítico (Ade-Ade). Sin embargo, se desconoce el papel de estas conformaciones en el mecanismo de inhibición alostérica de la enzima. Estudios anteriores de nuestro grupo indican que la inhibición resulta en un incremento de la K_m aparente para su co-sustrato, fructosa-6-P y en una disminución de la constante catalítica (k_{cat}). En este trabajo se diseñaron mutantes para afectar la conformación Tyr-Ade y se caracterizaron en cuanto a sus propiedades cinéticas y a la afinidad por el ATP alostérico. Se encontró que, respecto a la enzima silvestre, las mutantes presentan una drástica disminución de la afinidad por el nucleótido, efecto que se correlacionó con una capacidad disminuida del efector para incrementar el valor de K_m aparente para fructosa-6-P. No obstante, las mutaciones no alteraron la disminución de la k_{cat} inducida por MgATP. Estos resultados sugieren que la afinidad del ATP alostérico unido en la conformación Tyr-Ade es mayor que la del unido en la conformación Ade-Ade. Además, la unión del ATP alostérico en la conformación Tyr-Ade estaría relacionada con el incremento de la K_m aparente de fructosa-6-P, pero no con la disminución de la k_{cat} que se observa en la enzima silvestre. Fondecyt 1090336.

17. IDENTIFICACIÓN Y CLONAMIENTO DE FITASAS EXTRACELULARES (Identification and cloning of extracellular fitases)

Ramírez, P.¹, Ojeda, P.¹, Costa, M.², Torres, M.², Reyes, A.M.¹ Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia¹. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia².

Uno de los principales problemas asociados con el uso de alimentos de origen vegetal en animales monogástricos y especies acuícolas es la presencia de factores antinutricionales, tales como el fitato (mio-inositol 1,2,3,4,5,6-hexa-fosfato). Hasta un 80% de fósforo total en plantas puede estar presente como este compuesto. El fitato también presenta afinidad variable con minerales esenciales, proteínas y aminoácidos formando complejos quelatos insolubles, de esta forma disminuyendo su absorción y biodisponibilidad. El fósforo contenido en el fitato prácticamente es desperdiciado debido a la carencia de fitasas intestinales que lo hidrolizan eficientemente. Las fitasas son enzimas que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, hallándose en variedades de microorganismos, plantas y animales. Con el propósito de generar una fitasa que cumpla con los requisitos necesarios, en cuanto a pH y temperatura, como una alternativa para incrementar la disponibilidad del fósforo fítico y otros nutrientes en peces, hemos investigado la actividad fitásica extracelular en tres microorganismos: *Aspergillus ficuum* DSM 932, *Bacillus subtilis* y *Bacillus sp.* De acuerdo a los resultados obtenidos, cada una de estas fitasas presenta diferentes propiedades cinéticas, de pH y temperatura óptima. La secuenciación de los clones obtenidos nos permitirá evaluar residuos aminoácidos que están asociados con sus propiedades específicas de catálisis (DID-UACH S-2008-56; FONDECYT 1060198).

19. UBIQUITINACIÓN Y SUMOILACIÓN DE LA PROTEÍNA VIRAL TAX EN LINFOCITOS INFECTADOS CON HTLV-I (Ubiquitination and Sumoylation of Tax viral protein in HTLV-I infected lymphocytes)

Medina, F.¹, Alberti, C.¹, Barriga, A.¹, Ramírez, E.^{2,3}, Cartier, L.⁴, Puente, J.¹, Valenzuela, M.A.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹. ICBM, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile². Instituto de Salud Pública de Chile³. Departamento de Ciencias Neurológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile⁴.

El virus linfotrópico humano tipo-I (HTLV-I) es el agente etiológico de la Leucemia de Células T del Adulto y la Mielopatía Asociada al HTLV-I/Paraparesia Espástica Tropical. Se desconocen aún los mecanismos de patogénesis en ambas enfermedades, pero se han relacionado con la expresión de la proteína viral Tax en linfocitos infectados. Mediante estudios de inmunofluorescencia y citometría de flujo hemos establecido la presencia de Tax en linfocitos infectados. Sin embargo, utilizando western blot observamos una especie de 70 kDa, superior al peso molecular teórico de 40 kDa. Estudios recientes sugieren una regulación de la funcionalidad de esta proteína mediante la unión covalente de las proteínas Ubiquitina y SUMO en residuos de lisina de Tax, lo cual no se ha demostrado en linfocitos infectados. La presencia de estas modificaciones postraduccionales explicaría el retardo electroforético observado. Posteriores análisis demuestran inmunoreactividad contra Ubiquitina y SUMO de la banda a 70 kDa. La purificación y caracterización mediante espectrometría de masas de esta especie reveló la presencia de señales coincidentes con masas teóricas de péptidos trípticos para Ubiquitina, SUMO y Tax, obteniendo respectivamente un 38, 50 y 12% de cobertura de secuencia para cada proteína. Además se encontraron señales concordantes con péptidos de Tax ubiquitinados en K111 y una señal a 1479,80 Da coincidente con la masa teórica del péptido de Ubiquitina LIFAGK⁴⁸QLEDGR modificado a su vez en K48 por otra Ubiquitina, lo cual indica poli-Ubiquitinación de la especie a 70 kDa. Financiamiento: Fondecyt 1080396.

18. LA DIVERSIFICACIÓN DEL SECRETOMA DE *Penicillium purpurogenum* ES DEBIDO A FOSFORILACIONES Y A GLICOSILACIONES DEL TIPO O Y N. (*Penicillium purpurogenum* diversifies its secretome through the use of phosphorylation and type O and N glycosylations)

Pérez, N.¹, Navarrete, M.¹, Callegari, E.², Eyzaguirre, J.¹ Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello¹. Universidad de Dakota del Sur, Vermillion, SD, USA².

Penicillium purpurogenum es un hongo hemicelulolítico que crece en los bosques del sur de Chile que posee como característica una gran adaptabilidad al entorno que lo rodea; esto gracias a que es capaz de realizar una expresión diferencial de sus proteínas extracelulares (secretoma) dependiente de la fuente de carbono. Hemos visto que es posible detectar sobre 250 proteínas distintas en electroforesis bidimensional cuando el hongo crece en fuentes de carbono complejas como coseta de remolacha. La movilidad electroforética de las distintas proteínas denota la posible existencia de modificaciones post traduccionales que alteran carga pero no la masa y en otros casos hay cambio tanto en carga como en masa. En este estudio hemos elegido glucosa como fuente de carbono ya que en esta condición el secretoma es más discreto lo que permite un análisis más simplificado de las distintas estrategias que el hongo podría utilizar. Mediante el empleo de diversas técnicas proteómicas hemos detectado que ciertos cambios electroforéticos son debidos a glicosilaciones del tipo N y O así como también debido a fosforilaciones. Nosotros proponemos que estas estrategias son empleadas por el hongo cuando se enfrenta a fuentes de carbono más complejas lo que en ese caso podría significar una forma de diversificar el proteoma para adaptarse a las distintas condiciones y hacer más eficiente la degradación de la fuente de carbono.

20. ABORDAJE DE PROTEÓMICA PARA EL ESTUDIO DEL CITOESQUELETO DE *Trichomonas vaginalis* (Proteomic approaches to cytoskeleton studies of *Trichomonas vaginalis*)

Muñoz, C.¹, Osorio, L.¹, Farias, C.¹, Pizarro, P.¹, Sagua, H.¹, Araya, J.¹, Gonzalez, J.¹ Unidad de Parasitología Molecular, Universidad de Antofagasta¹.

Trichomonas vaginalis es un protozoo flagelado, agente causal de la tricomoniasis, parasitosis que afecta el tracto urogenital humano y cuya incidencia anual se estima en más de 170 millones de nuevos casos. La parasitosis se asocia a vulvovaginitis en la mujer, mientras que el hombre puede sufrir prostatitis y epididimitis. En ambos sexos, se asocia a un aumento en la susceptibilidad a la infección por VIH. El tratamiento, sólo es posible con metronidazol y sus derivados, no obstante alrededor del 5% de las cepas son resistentes a metronidazol. Frente a esto, no existe una alternativa terapéutica. El papel del citoesqueleto en la patogenicidad de *T. vaginalis* ha sido propuesto y el tratamiento del parásito con estabilizadores de microtúbulos resulta en inhibición de la adhesión y proliferación. En este trabajo, utilizando abordajes de proteómica se caracterizó el citoesqueleto de *T. vaginalis*. Las proteínas fueron aisladas mediante fraccionamiento diferencial con detergentes, para obtener la fracción del citoesqueleto. Las proteínas del citoesqueleto fueron resueltas mediante geles bidimensionales, uno de los cuales fue teñido con Azul de Coomassie y el otro fue electrotransferido a papel PVDF, donde el inmunoblot fue revelado con anticuerpo contra tubulina. A partir de los geles teñidos con Azul de Coomassie, se identificaron 215 spots de proteínas, cada uno de los cuales fue escindido del gel e identificado mediante espectrometría de masas. Se comprueba que el citoesqueleto es una estructura compleja, donde la tubulina uno de sus componentes mayoritarios.

21. ABORDAJE DE PROTEÓMICA PARA EVALUAR EL EFECTO DE LA EXPOSICIÓN PROLONGADA A BORO EN LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS DE *Eisenia foetida*. (Proteomics approach to evaluate the effect of long term exposure to boron in *Eisenia foetida* protein expression.) **Osorio, L.¹, Araya, M.¹, Báez, J.¹, Vidal, M.¹, Muñoz, C.¹, Gonzalez, J.¹** Unidad de Parasitología Molecular, Universidad de Antofagasta, Chile¹.

El Boro es un metaloide que en la naturaleza se encuentra como ácido bórico, boratos o borosilicatos. El norte de Chile, se caracteriza por poseer importantes reservas de Boro y presentar altas concentraciones en el agua potable, en especial en la región de Parinacota, con una concentración media de 12 mg/L. Mediante el uso de *E. foetida* como modelo de estudio y análisis del perfil proteico mediante geles bidimensionales, se evaluó el efecto tóxico a la exposición de boro. Se expusieron lombrices de la especie *E. foetida* a distintas concentraciones de Boro (0; 0,01; 0,1; 1; 2 y 4 g/L de ácido bórico) por un mes y se realizó paralelamente una curva de desarrollo. Se evaluó además la presencia o ausencia de clitelio, como criterio de madurez sexual y la postura de huevos. A concentraciones tan bajas como 4 g/L, se observó una marcada inhibición en el desarrollo (3,7 s.d.2,1 g en los controles v/s 0,9 s.d.1,3 g en las expuestas). El 100% de las lombrices expuestas no presentaban clitelio y no hubo postura de huevos (10 en los controles v/s 0 en las tratadas). Al analizar los geles bidimensionales se observaron diferencias en la expresión de proteínas de las lombrices expuestas a Boro detectándose una clara disminución en 4 proteínas y la sobreexpresión de 16, en comparación con las lombrices controles. Lo anterior permite concluir que el Boro afecta de manera significativa el desarrollo y la expresión proteica en *E. foetida*.

23. MECANISMO DE TRANSCRIPCIÓN DEL ELEMENTO HOMOL-D EN EUKARIONTES (Homol-D box Transcription Mechanism.) **Contreras-Levicoy, J.¹, Urbina, F.¹, Rojas, D.A.¹, Moreira-Ramos, S.¹, Maldonado, E.¹** Laboratorio de Transcripción de Eucariontes, Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹.

La transcripción en eucariontes requiere de seis factores generales: TFIIA, TFIIB, TFIID, TFII E, TFII F y TFII H, además de un core promoter donde estos factores pueden iniciar la formación del complejo de preiniciación. Entre los core promoters la caja TATA es la más estudiada y ya se ha dilucidado su mecanismo de transcripción. Sin embargo, en los promotores de genes de proteínas ribosomales es posible encontrar una secuencia denominada Homol-D en ausencia de caja TATA u otro core promoter identificable, estructura que se encuentra también en el promotor del gen ATPasa humano ATP6V1H. Sin embargo el mecanismo de transcripción de este tipo de promotores no se conoce. Objetivo: Determinar el mecanismo de transcripción de promotores que sólo contienen la caja Homol-D. Métodos: El promotor del gen ATP6V1H fue clonado en plasmidio que contiene un G-less cassette. El DNA plasmidial purificado fue ensayado en reacciones de transcripción *in vitro* usando extractos de células HeLa. La proteína que se une a la caja Homol-D fue detectada por EMSA luego de una serie de purificaciones secuenciales con columnas de fosfocelulosa, S-sefarosa y de afinidad. Resultados: Se identificó una proteína candidata que se une a la caja Homol-D.

22. IDENTIFICACIÓN DE RNAs PEQUEÑOS REGULADOS POR NITRATO MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA ILLUMINA. (identification of nitrate regulated small RNAs by illumina deep sequencing technology) **Moyano, T.C.¹, Vidal, E.A.¹, Krouk, G.², Tanurdzic, M.³, Coruzzi, G.M.², Gutiérrez, R.A.^{1,2}.** Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Department of Biology, New York University². Cold Spring Harbor Laboratory³.

Nitrógeno es un macronutriente esencial, disponible principalmente como nitrato en suelos agrícolas. Nitrato también puede actuar como una señal que regula la expresión génica en plantas. Estudios de expresión génica global sugieren que la regulación post-transcripcional por RNAs pequeños (sRNAs) podría ser un mecanismo importante en la respuesta génica a nitrato en raíces de Arabidopsis. Los sRNAs son secuencias de RNA no codificante de 21-24nt, entre los cuales se encuentran miRNAs y siRNAs. Estas moléculas de RNA han surgido como reguladores clave de redes transcripcionales en plantas y otros organismos. El desarrollo de nuevas tecnologías de secuenciación masiva, tales como 454 e Illumina ha permitido identificar una gran cantidad de sRNAs en Arabidopsis y otras especies. De manera de identificar módulos sRNA:blanco que respondan a nitrato en raíces, secuenciamos sRNAs y mRNAs provenientes de raíces tratadas con nitrato y raíces control, utilizando la tecnología Illumina. Las ~6 millones de lecturas obtenidas de cada muestra fueron analizadas mediante herramientas bioinformáticas públicas y desarrolladas en nuestro laboratorio. Pudimos identificar secuencias correspondientes a miRNAs conocidos, entre ellos algunos cuya expresión varía con el tratamiento. Además, mediante algoritmos de predicción de miRNAs, identificamos secuencias correspondientes a posibles nuevos miRNAs y validamos la expresión de algunos de ellos. Agradecimientos: FONDECYT(1060457), Núcleo Milenio P06-009-F, ICGEB CRPCHI0501, NIH-FIRCA 1R03PW007823-01A1 F614-01.

24. C/EBP β INTERACCIONA CON EL COMPLEJO REMODELADOR DE CROMATINA ISWI (C/EBP interacts with ISWI chromatin remodeling complex) **Steinberg, X.¹, Hepp, M.¹, Gutiérrez, J. L.¹** Laboratorio de Regulación Transcripcional, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción¹.

C/EBP β es un factor de transcripción de la familia de los C/EBPs, el que se expresa en distintos tejidos como 3 isoformas que se generan a partir de inicio de la traducción en sitios alternativos de un mismo ARNm. Esta proteína consta de un dominio de unión a ADN y dimerización hacia el extremo carboxilo-terminal, un dominio regulatorio central y un dominio de transactivación (TAD) hacia el extremo amino-terminal. En humanos la isoforma 1 posee el TAD completo, la segunda isoforma carece de los primeros 22 aminoácidos del TAD y la isoforma 3 no lo contiene. Los complejos remodeladores de cromatina ATP dependientes participan en diversos aspectos del metabolismo nuclear, destacando su participación en la regulación de la transcripción. Se ha observado que la presencia de complejos de este tipo en promotores específicos depende en gran medida de su reclutamiento por parte de factores de transcripción. En este contexto, se ha descrito que C/EBP β interacciona con el complejo SWI/SNF. Sin embargo, los efectos de activación y represión transcripcional ejercidos por este factor podrían estar relacionados al reclutamiento de distintas versiones de SWI/SNF o bien a la capacidad de reclutar también otros complejos remodeladores. Mediante estudios de interacción proteína-proteína *in vitro*, asociado a detección por espectrometría de masas, hemos encontrado que C/EBP β también interacciona con complejos remodeladores del tipo ISWI. Posteriormente hemos confirmado la interacción con subunidades específicas de complejos ISWI mediante GST pull-down e inmunodetección. Fondecyt 1085092



25. ALTERACIÓN DEL CONTENIDO GLUTATIÓN Y SU EFECTO EN LA EXPRESIÓN DE LOS TRANSPORTADORES DE VITAMINA C (SVCTS) EN CÉLULAS DE SERTOLI (Alteration in the glutathione content and its effect on vitamin C transporters (SVCTS) in Sertoli cells) **Mancilla, H.¹**, Maldonado, R.¹, Villarroel, F.¹, Pulgar, E.¹, Yañez, A.E.¹, Slebe, J.C.¹, Rivas, C.I.², Vera, J.C.², Castro, M.A.¹, Angulo, C.¹, Concha, I.I.¹ Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile¹. Departamento de Fisiopatología, Universidad de Concepción².

El glutatión y vitamina C son los antioxidantes solubles más importantes en la fisiología celular con un papel fundamental en el desarrollo de las células germinales. El ácido ascórbico se encuentra altamente concentrado en testículo gracias a la expresión de los transportadores de vitamina C (SVCTS) y el glutatión se ha involucrado en la acumulación intracelular de la forma reducida de la vitamina C. Para estudiar la relación entre los niveles glutatión y la expresión de los SVCTS se trataron ratas in vivo con L-Butionina-Sulfoximina (BSO), inhibidor de la gama-glutamylcisteina sintetasa, que cataliza la formación de un enlace amido en la etapa limitante de la síntesis del glutatión, observándose una expresión diferencial de SVCTS. Esto se confirmó por inmunocitoquímica, Western blot y RT-PCR en la línea celular de Sertoli 42GPA9 tratada con BSO y con dietilmaleato (DEM), sustrato de la glutatión *s*-transferasa, usado para disminuir el contenido de glutatión vía reacción de conjugación. Además, se observó que distintas concentraciones intracelulares de glutatión muestran una mayor sensibilidad al estrés oxidativo causado por peróxido de hidrógeno. Estos resultados sugieren que hay una estrecha relación entre la expresión de los SVCTS y el contenido de glutatión, confirmando la interdependencia del ácido ascórbico y el glutatión como antioxidantes en la fisiología celular. (FONDECYT 1060135, DID-UACH).

27. CONTRIBUCIÓN DE COACTIVADORES DE LAS FAMILIAS p160/SRC Y DRIP205/TRAP220 A LA RESPUESTA DE GENES ÓSEOS A VITAMINA D3 (Contribution of co-activators from the p160/SRC and DRIP205/trap220 families to vitamin D3 responsiveness of bone-related genes) **Moena, D.¹**, Montecino, M.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile¹.

La 1 α ,25-dihidroxi vitamina D3 (VD3) es un modulador principal en la transcripción de genes óseos, ya que se une al receptor de vitamina D (VDR), permitiéndole heterodimerizar con el receptor de ácido retinóico (RXR) y así unirse a elementos de respuesta ubicados en genes promotores dependientes de VD3. VDR puede también interactuar con coactivadores transcripcionales de la familia p160/SRC, los cuales contribuyen al remodelamiento de cromatina gracias a su actividad acetil transferasa de histonas (HAT). Además VDR puede interactuar con otros coactivadores como con el complejo DRIP por medio de la subunidad DRIP 205, formando un puente entre VDR unido al promotor blanco y la maquinaria transcripcional. Para profundizar en los mecanismos de respuesta a VD3 en diferentes genes, se generaron células osteoblásticas en las cuales la expresión de los coactivadores transcripcionales S-1RC y DRIP205 es silenciada por medio de siRNA específicos. Al analizar el efecto de esta condición sobre la expresión y actividad de promotores de genes asociados al fenotipo óseo que responden a VD3, hemos encontrado que distintos mecanismos estarían operando durante estas respuestas transcripcionales. Nuestros resultados, por lo tanto, argumentan en contra de un único mecanismo secuencial y cíclico de reclutamiento de coactivadores a promotores blanco durante la respuesta transcripcional a VD3. FONDECYT 1095075.

26. ALDOSTERONA REGULA LA EXPRESIÓN DEL GEN SLC28A3 EN CÉLULAS DE RIÑÓN HUMANO (Aldosterone Regulates The Expression Of Slc28a3 Gene In Human Kidney Cells) **Muñoz-Adelantado, E.¹**, Casado, J.¹, Pastor-Anglada, M.¹ Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Institut de Biomedicina (IBUB), Universitat de Barcelona. CIBER EHD, Barcelona¹. Patrocinante: Sobrevía, L. El gen *SLC28A3* codifica el transportador concentrativo de nucleósidos hCNT3, localizado principalmente en el túbulo contorneado proximal y segmentos distales de la nefrona, realizando una función esencial en el flujo transepitelial de nucleósidos naturales y fármacos derivados. En este trabajo hemos estudiado el papel de la aldosterona en la regulación transcripcional del gen *SLC28A3*. Esta hormona está implicada en la reabsorción tubular de sodio, por lo que puede estar vinculada al transporte dependiente de sodio realizado por los transportadores de nucleósidos de tipo concentrativo, como hCNT3. El análisis de expresión de mRNA de *SLC28A3* endógeno en presencia de aldosterona muestra la existencia de un efecto activador de esta hormona a corto plazo y dosis-dependiente. Hemos analizado también la regulación transcripcional del promotor de este gen por aldosterona. Los resultados de este estudio muestran que existe una región, entre -1480 y -840 nucleótidos del promotor, implicada en su activación transcripcional. Estudios in silico de esta región muestran la existencia de una secuencia de reconocimiento por NFK β . Actualmente se están realizando estudios de mutagénesis dirigida sobre dicha secuencia de reconocimiento. Por otro lado, se han realizado ensayos de EMSA para comprobar si este factor es capaz de unirse a la secuencia del promotor. Resultados preliminares muestran que NFK β se une de manera eficiente a la secuencia predicha in silico del promotor de *SLC28A3*, promoviendo de esta manera la activación transcripcional de este gen. Financiamiento: MICINN y MAE (España).

28. LA ACTIVIDAD REMODELADORA DEL COMPLEJO γ SWI/SNF ES MODULADA POR PROTEÍNAS DE LA FAMILIA HMGB (The remodeling activity of the γ SWI/SNF complex is modulated by proteins of the HMGB family) **Hepp, M.¹**, Steinberg, X.¹, Gutiérrez, J.L.¹ Laboratorio de Regulación Transcripcional, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Cs. Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción¹.

En el núcleo de células eucariontes el ADN forma parte de la cromatina, la que se organiza en varios niveles de compactación. El acceder a este ADN requiere de la remodelación de la cromatina, que es efectuada por complejos especializados, entre los que se encuentran los complejos remodeladores de cromatina dependientes de ATP. SWI/SNF es uno de los complejos miembros de esta familia. Este complejo muestra básicamente dos tipos de acción remodeladora: Reposicionamiento del nucleosoma en *cis* (sliding) y expulsión del octámero de histonas (eviction). Existen además proteínas que pueden afectar la remodelación de la cromatina, como son las proteínas HMG, específicamente del tipo HMGB. Se sabe además que estas proteínas facilitan la remodelación de cromatina de un tipo de complejo remodelador dependiente de ATP denominado ISWI. Por lo anteriormente expuesto, postulamos que las proteínas HMGB podrían modular el efecto que tiene SWI/SNF en la remodelación de cromatina, afectando las actividades de sliding y eviction que posee el complejo. Para analizar ésto estudiamos estas actividades en el complejo SWI/SNF de levadura, en presencia de diferentes proteínas HMG del tipo HMGB, tres de levadura y una humana, mediante ensayos de remodelación de mononucleosomas reconstituidos *in vitro*. Con estos ensayos encontramos que estas proteínas estarían aumentando la actividad de sliding y podrían estar inhibiendo la actividad de eviction de este complejo remodelador. FONDECYT 1085092.



29. LA EFICIENCIA DE LA TRADUCCIÓN DEL TRANSCRITO DE UROCORTINA ES REGULADA POR SPLICING ALTERNATIVO

(Alternative splicing of the urocortin transcript regulates its translation efficiency) **Munita, R.¹**, Fuenzalida, J.¹, Gysling, K.¹ Núcleo Científico Milenio Estrés y Adicción (NEDA), Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ¹. **Patrocinante: Andrés, M.E.**

Urocortina (Ucn) es un péptido de 40 aminoácidos de la familia de la hormona liberadora de corticotrofina (CRH) que tiene una identidad de secuencia aminoácídica de 45% con CRH y una alta afinidad por los dos receptores de CRH. El gen de Ucn tiene una estructura simple, está compuesto por dos exones y un intrón. El prepropéptido de Ucn está completamente codificado en el segundo exón. Nosotros previamente mostramos que en ratas existe una variante de Ucn que retiene el intrón. Este transcrito está poliadenilado y es exportado al citoplasma, pero no se había evaluado aun que sucede con su traducción. El objetivo de este trabajo es analizar la influencia de la retención del intrón sobre la traducción del prepropéptido de Ucn. Para este propósito, generamos construcciones reporteras, en las cuales se clonó el 5'UTR de Ucn, con o sin intrón, río arriba del marco de lectura de luciferasa. Luego transfectamos las construcciones en células HEK293 y analizamos el efecto del intrón y/o del splicing sobre la eficiencia de la traducción, midiendo la actividad de luciferasa. Nuestros resultados muestran que la retención del intrón de Ucn inhibe la traducción del reportero. Estos resultados sugieren que el transcrito de Ucn que retiene el intrón es traducido menos eficientemente y que los niveles de Ucn en diferentes tejidos podrían ser regulados por splicing alternativo. Financiado por los proyectos ICM N° P06/008-F y FONDECYT 1070340.

31. IDENTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS QUE SE UNEN A LA CAJA HOMÓLOGA DEL PROMOTOR K5 EN *Schizosaccharomyces pombe*

(Identification Of The Homolog-Binding Proteins In K5 Promoter From *Schizosaccharomyces pombe*) **Rojas, D.A.¹**, Moreira-Ramos, S.¹, Contreras-Levicoy, J.¹, Urbina, F.¹, Maldonado, E.¹ Laboratorio de Transcripción en Eucariotes, Programa Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹.

Los genes que codifican proteínas son transcritos por la RNAPII, cuya maquinaria esta bien descrita, incluyendo los factores generales de la transcripción (GTFs). Estos GTFs se unen a regiones llamadas core promoter elements (CPE), como la caja TATA. Se han descrito diferentes CPEs, siendo de particular interés el descrito en promotores de proteínas ribosomales en *Schizosaccharomyces pombe*, llamado caja homóloga, cuya secuencia consenso es CAGTACA. Se ha demostrado que este elemento es suficiente para iniciar la transcripción en promotores que no tienen caja TATA. Como no se sabe cual es la maquinaria que se une a esta región y que lleva a cabo la transcripción, en este trabajo se identificó el complejo proteico que se une a homóloga. Por medio de ensayos de EMSA se encontró que existen proteínas que se unen a la caja homóloga, de forma específica, y además que TBP estaría favoreciendo la formación de este complejo. Estos mismos resultados fueron repetidos al utilizar fracciones purificadas por una columna de afinidad, luego de sucesivos pasos de semi-purificación por medio de columnas de intercambio iónico. Por medio de geles SDS-PAGE y tinciones con plata y azul de coomassie, se logró determinar que aparentemente son 3 las proteínas que se están uniendo a homóloga, las cuales han sido enviadas a secuenciar para su posterior clonamiento y caracterización. De estas, actualmente sabemos que Rrn7 sería candidata a formar parte de este complejo, cuya función conocida es reclutar RNAPII.

30. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD DEL PROMOTOR DE RIC-8B HUMANO EN CÉLULAS HEK293T (Study Of The Human Ric-8B Promoter Activity In HEK293T Cells)

Maureira, A.¹, Grandy, R.², Hinrichs, M.V.¹, Olate, J.¹ Laboratorio de Genética Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción².

Ric-8 es una proteína altamente conservada, desde organismos inferiores hasta mamíferos. Se conocen 2 isoformas, Ric-8A y Ric-8B. Su expresión es diferencial en diversos tejidos, siendo Ric-8A ubicuota mientras que Ric-8B se expresa principalmente en forma tejido-específica, por ejemplo, en territorio neuronal. Lo anterior, posiblemente definido por la presencia de elementos de respuesta específicos en el promotor de Ric-8B. Antecedentes previos han demostrado la existencia de elementos de unión al factor de transcripción C/EBP β en la porción más proximal del promotor de Ric-8B, siendo la isoforma LAP* capaz de generar un efecto represor sobre la actividad del promotor. Se sabe que la expresión de C/EBP β es regulada positivamente por la activación de la vía de señalización dependiente de AMP cíclico a través de la proteína G β s sobre la cual se ha visto en nuestro laboratorio que Ric-8B posee actividad GEF. Todo anterior representaría un sistema de retroalimentación negativa de la vía. Basados en esto antecedentes, nos propusimos como hipótesis de trabajo que el promotor de Ric-8B es regulado negativamente en células HEK293T en respuesta a la activación de la vía dependiente de AMP cíclico, tanto por activación del receptor β -Adrenérgico endógeno con Isoproterenol como por activación directa de la adenililciclase con Forskolina. Utilizando como aproximación experimental ensayos de actividad del gen reportero luciferasa regulado por distintas regiones del promotor de Ric-8B humano, hemos encontrado que regiones próximas al inicio de la transcripción son las responsables de la regulación negativa. FONDECYT 1090150.

32. PARTICIPACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DoxDA1 Y DoxDA2 EN LA OXIDACIÓN DEL TIOSULFATO EN *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC23270

(Involvement of DoxDA1 and DoxDA2 proteins in thiosulfate oxidation in *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC23270) **Beard, S.¹**, Jerez, C.A.¹ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

Acidithiobacillus ferrooxidans es una bacteria Gram-negativa quimiolitotrófica que obtiene su energía de la oxidación de compuestos reducidos de azufre (RISC). Las proteínas involucradas en la oxidación de RISC en *A. ferrooxidans* son desconocidas. Durante la oxidación del tiosulfato por *A. ferrooxidans* se genera tetrationato como intermediario, reacción catalizada por una tiosulfato deshidrogenasa (TD). El análisis del genoma de la cepa ATCC23270 mostró la presencia de dos genes, *doxDA1* y *doxDA2*, que son ortólogos a los codificantes para la TD del arqueón *Acidianus ambivalens*, la cual es un complejo de membrana con actividad tiosulfato:quinona oxidoreductasa (TQO). En este trabajo se evaluaron las actividades TD y TQO en *A. ferrooxidans* ATCC23270 y se caracterizó a nivel transcripcional la expresión de los genes *doxDA1* y *doxDA2*. La actividad TD se encuentra en la fracción soluble y de membrana, siendo esta última del tipo TQO. Análisis de RT-PCR y Northern-Blot mostraron que el gen *doxDA1* se transcribe como un operón policistrónico. Se determinó el inicio de la transcripción y su región promotora mediante extensión del partidor. Para *doxDA2* (codificada en un ORF de 1,1kb) se identificó un único fragmento de 0,2kb, lo que sugiere que este transcrito sufre una degradación o procesamiento postranscripcional, lo que resultaría en la no expresión de DoxDA2 o su expresión en una forma no activa. Los resultados obtenidos sugieren fuertemente que DoxDA1 es responsable de la actividad TQO en *A. ferrooxidans* ATCC23270. Financiamiento: Proyecto ICMPO5-001-F y Beca CONICYT-Doctorado.

33. HOMOLD BOX: UN NUEVO CORE PROMOTER QUE DIRIGE LA TRANSCRIPCIÓN DEPENDIENTE DE LA RNA POLIMERASA II EN *Schizosaccharomyces pombe* (Homold-box: a new core promoter that directs RNA polymerase II dependent transcription in *Schizosaccharomyces pombe*) **Moreira-Ramos, S.¹**, Rojas, D.A.¹, Contreras-Levicoy, J.¹, Urbina, F.¹, Maldonado, E.¹ Laboratorio de Transcripción en Eucariontes, Programa Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹.

La transcripción es un proceso importante en la regulación genica y en eucariontes es llevada a cabo por tres clases de RNA polimerasas (RNAPI, II y III). Existen regiones en el DNA que especifican la RNAP y el programa transcripcional a utilizar, como los Core Promoters (CP), en donde se encuentran subregiones funcionales llamadas Core Promoter Elements (CPE), necesarios para el inicio de la transcripción, de los cuales se ha identificado para la RNAPII el elemento TATA e iniciador, entre otros. Cuando en *Schizosaccharomyces pombe* se determinó la región promotora de genes de proteínas ribosomales, se encontró que no poseían ninguno de los CPE descritos, sino un nuevo CPE, denominado caja homold. Sin embargo, se desconoce la maquinaria transcripcional que opera sobre los promotores que contienen la caja homold. Mediante ensayos de transcripción in vitro se determinó que la caja homold es necesaria para la transcripción de genes a través de la RNAPII en *S. pombe*, necesitando la presencia de TBP y TAF1, ambas pertenecientes al complejo TFIID. Sin embargo, a través de ensayos de EMSA se determinó que TBP no es la proteína que se une a la caja homold.

35. ANÁLISIS DE PATRONES DE EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA MADURACIÓN SEXUAL EN *Haliotis rufescens* (GASTROPODA: HALIOTIDAE) (Expression pattern analysis of genes related to sexual maturation in *Haliotis rufescens* (Gastropoda: Haliotidae)) **Gutiérrez, A.P.^{1,2}**, Uribe, E.A.², Gallardo-Escárate, C.¹ Departamento de Oceanografía, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción².

Los mecanismos genético-moleculares involucrados en la reproducción y desarrollo sexual en invertebrados marinos incluyen complejos eventos y mecanismos que están controlados por la acción de una variedad de procesos bioquímicos y la acción de cascadas de expresión génica donde intervienen proteínas tales como factores de transcripción, enzimas esteroidogénicas, entre otros. En moluscos a nivel genético, existe evidencia de genes ortólogos involucrados en el proceso reproductivo, sin embargo, se desconocen los patrones de expresión específicos durante el desarrollo ontogenético así como durante el proceso de maduración y diferenciación sexual. El presente estudio plantea el análisis de la expresión de genes relacionados a nivel sexual en el abalón rojo *Haliotis rufescens*. Los niveles de expresión fueron evaluados a partir de primers específicos mediante RT-PCR semi-cuantitativo para los genes Dmrt1, lisina, tektina, Axonemal p66, proteína de fertilización, VERL, vitelogenina, Vcp2 y SARIP durante diferentes etapas de crecimiento de *H. rufescens*. Los resultados muestran un patrón de expresión génica relacionado con el sexo para Dmrt1, tektina y lisina en machos así como VERL y vitelogenina en hembras. Adicionalmente fue posible relacionar la expresión de algunos genes con el desarrollo gametogénico presente en abalón. Se discute la factibilidad de silenciar genes involucrados en la maduración gonadal como una biotecnología para el control sexual en moluscos de importancia comercial. Financiamiento: FONDEF D0711085.

34. CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA TRANSCRIPCIONAL DE *Ceriporiopsis subvermispora*: IDENTIFICACIÓN DE GENES REGULADOS POR EL ION Mn^{2+} (Characterization of the transcriptional response of *Ceriporiopsis subvermispora*: Identification of genes regulated by Mn^{2+}) **Tirado, A.¹**, Seelenfreund, D.¹, Lobos, S.¹, Vicuña, R.² Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile². *Ceriporiopsis subvermispora* es un hongo basidiomicete ligninolítico que es muy eficiente y selectivo para la degradación de la lignina. La maquinaria metabólica empleada por este organismo se compone de Manganese Peroxidasa (MnP) y Lacasa. Estas enzimas han sido bien caracterizadas por nuestro grupo y se ha determinado que la actividad de MnP es absolutamente dependiente de Mn^{2+} . La profundización en el estudio de estas enzimas a través de enfoques moleculares, determinó que la maquinaria ligninolítica podría ser regulada por metales, específicamente por Mn^{2+} . A través de la técnica de cDNA-AFLP, se obtuvieron marcadores derivados de transcritos que permitieron establecer la existencia de una respuesta específica para el ion Mn^{2+} . En este trabajo se presenta la identificación de componentes de la homeostasis de Mn^{2+} en *C. subvermispora*, mediante los marcadores generados por cDNA-AFLP. A través del secuenciamiento de regiones genómicas identificadas en la genoteca genómica construida en el vector LambdaGEM-11, se logró establecer una alta homología a dos transportadores específicos para Mn^{2+} , previamente caracterizados en otros organismos: PHO84 y Transportador de sideróforos. La presencia del transportador de sideróforos sugiere un modelo de regulación concertado para la actividad ligninolítica y ROS. Además, se presenta evidencia de un elemento específico para la respuesta a Mn^{2+} identificado mediante métodos bioinformáticos, utilizando promotores de genes de MnP de basidiomicetes ligninolíticos y promotores de genes de otras especies cuya expresión es regulada por Mn^{2+} . FONDECYT 1070588.

36. DETERMINACIÓN DE LA FUNCIÓN DE LOS GENES -CAROTENO DESATURASA EN LA BIOSÍNTESIS DE CAROTENOIDES EN *Daucus carota* (ZANAHORIA). (Determination of the function of ζ -Carotene desaturase genes in the biosynthesis of Carotenoids in *Daucus carota* (carrot).) **Flores, C.A.¹**, Stange, C.¹. Laboratorio de Biología Molecular Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile¹.

Los carotenoides son pigmentos involucrados en la fotosíntesis, fotoprotección y síntesis del ácido abscísico (ABA) en plantas. En animales, son precursores de la vitamina A. Generalmente, cada enzima de la ruta está codificada por un gen, no obstante, se han reportado casos en donde más de un gen codifica para enzimas con igual actividad. En estos casos, la expresión de los genes está asociada a un órgano específico (hojas o frutos). *D. carota*, es la única planta donde se han identificado dos secuencias de la enzima ζ -caroteno desaturasa (*zds1* y *zds2*). Adicionalmente, la zanahoria acumula altos niveles de carotenoides, en especial ζ -caroteno, en órganos expuestos a la luz (hojas) y en oscuridad (raíz). Por lo tanto evaluamos la función y posibles regulaciones orgánicas específicas de estos genes mediante silenciamiento genético postranscripcional (SGPT). Se generaron vectores utilizando las regiones 3'NTR de cada gen y se transformaron establemente plantas de zanahoria. Para el SGPT de *zds2*, se determinó, mediante PCR cuantitativo, que 3 líneas poseen más de un 90% de silenciamiento exclusivamente para el gen *zds2*. Sin embargo, no se alteraron los niveles de carotenoides, medidos por HPLC, ni los de ABA, determinados por ELISA. Estos resultados sugieren que existiría compensación por *zds1* o redundancia genética. Para el SGPT de *zds1* y el SGPT simultáneo de *zds1* y *zds2* no se han podido obtener plantas viables, sugiriendo que *zds1* es esencial para la sobrevivencia de la planta. FINANCIADO POR FONDECYT 11080066

37. ANÁLISIS *in silico* DE PROMOTORES DE GENES CON ACTIVACION TEJIDO ESPECIFICA EN RESPUESTA A SALINIDAD EN *Arabidopsis thaliana* (*In silico* analysis of promoters with tissue specific activation in response to salinity in *Arabidopsis thaliana*) **León, L.¹**, Holuigue, L.¹ Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Las plantas se encuentran continuamente sometidas a diversas condiciones de estrés, tanto biótico como abiótico. Dentro del estrés abiótico, la salinidad ha cobrado vital importancia por su amplia distribución y sus efectos negativos en el crecimiento de las plantas. Con el objetivo de identificar *in silico* elementos de respuesta a estrés salino de forma tejido específica, hemos utilizado bases de datos de micromatrices disponibles públicamente correspondientes a plántulas de *Arabidopsis* tratadas con 150 mM de NaCl. Con el uso del programa Genesifter los datos fueron normalizados mediante gCRMA, para luego identificar genes expresados diferencialmente mediante el test estadístico de Two-way ANOVA seguido de una corrección de *False Discovery Rate* ($p < 0.001$). Dicho análisis permitió identificar 421 genes expresados diferencialmente, los cuales fueron agrupados mediante *Partitioning Around Medoids*, obteniéndose clusters de genes inducidos en raíz y genes inducidos en la parte aérea por salinidad. Mediante la herramienta *FrameWorker* del software Genomatix se analizaron las secuencias promotoras de ambos grupos de genes identificándose una combinación de elementos OCSE-GBOX y MYBL-AHBP en la región promotora de los genes inducidos en raíz y una combinación de elementos L1BX-AHBP en la región promotora de los genes inducidos en la parte aérea, sugiriendo la participación de estos elementos en la activación transcripcional de estos genes frente a salinidad. Financiado por FONDECYT (1060494) y Núcleo Milenio Genómica Funcional Plantas (P06-009-F). CONICYT Beca D- 21080562.

39. CAMBIOS METABÓLICOS EN FRUTOS DE TOMATE CON DISTINTOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE UN FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN REGULADO POR ÁCIDO ABSCÍSICO. (Metabolic changes in tomato fruit with altered expression levels of an ABA-regulated transcription factor) **Bastías, A.¹**, Argamasilla, R.², Arbona, V.², Gómez-Cadenas, A.², Casaretto, J.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile¹. Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural, Universidad Jaime I, Castellón de la Plana, España².

El desarrollo de frutos es un proceso complejo regulado por hormonas vegetales que involucra una serie de cambios metabólicos y fisiológicos coordinados. Si bien se conoce algunas funciones de las fitohormonas auxina, citoquininas, giberelinas y etileno durante el desarrollo de frutos, poco se sabe sobre la acción del ácido abscísico (ABA). Con el fin de investigar el efecto de la señalización por ABA durante el desarrollo de frutos, se han utilizado líneas transgénicas de tomate que sobre-expresan y sub-expresan un factor de transcripción bZIP tipo AREB que media respuestas a ABA, para analizar cambios en la composición de metabolitos en el fruto. En el presente trabajo se determinaron los perfiles metabólicos en pericarpio de frutos de tomate en diferentes estados de desarrollo provenientes de plantas silvestres y líneas transgénicas. Para esto, fue necesario desarrollar un método confiable de metabólica basado en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-QqTOF-MS). La identificación de los perfiles metabólicos permitirá comprender de una forma global cómo participan este factor de transcripción y la señal de la hormona ABA en el desarrollo y maduración de frutos de tomate, lo que servirá para esclarecer las complejas redes existentes en el programa de desarrollo de frutos. Financiado por FONDECYT 1090426 y Beca Conicyt de pasantía en el extranjero.

38. CARACTERIZACIÓN DE LOS GENES VvBSL-1/2 DE *Vitis vinifera* EN EL CONTEXTO DE LA INFECCIÓN POR *Botrytis cinerea* (Characterization of genes VvBSL-1 and 2 of *Vitis vinifera* in the context of infection by *Botrytis cinerea*) **Serrano-Acevedo, J.¹**, Matus, J.T.¹, Arce-Johnson, P.¹ Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

El cultivo de la vid (*Vitis vinifera* L.) se ve afectado por *Botrytis cinerea*, el hongo necrotrofico causante de la pudrición gris, afectando así al fruto y su calidad. Gran parte de los eventos moleculares involucrados en el desarrollo de pudrición gris, son aun desconocidos. Desde un estudio en *A. thaliana*, se ha caracterizado un factor de transcripción R2R3MYB, MYB108/BOS1 involucrado en la susceptibilidad a *B. cinerea*. Nuestro grupo ha identificado dos modelos génicos, denominados VvBSL-1 y VvBSL-2 (*Vitis vinifera* Bos1Like-1 y 2), cuyas proteínas traducidas *in silico* poseen alta similitud con la proteína BOS1 completa y con el dominio de unión a DNA. Gracias al análisis de experimentos de Affymetrix realizados durante el desarrollo de la baya se observa que ambos genes cambian su expresión. Ambos genes son aislados desde vid, y mediante RT-PCR se caracterizó su respuesta frente a la infección por *Botrytis cinerea*. Los resultados muestran que los niveles de transcrito de ambos genes aumentan en hojas de Vid inoculadas con micelio de *B. cinerea* respecto a hojas no inoculadas. Este trabajo identifica dos genes capaces de responder a la infección por *B. cinerea* en vid. Financiamiento: Proyecto De Mejoramiento Genético De La Vid Del Consorcio De La Fruta.

40. COMPORTAMIENTO TRANSCRIPCIONAL DE *Vitis vinifera* SVP1 Y VvEBS, DOS GENES DE VID CON HOMOLOGIA A SHORT IN VEGETATIVE PHASE Y EARLY BOLTING IN SHORT DAYS DE *ARABIDOPSIS*, DURANTE EL DESARROLLO DE YEMAS (Transcriptional behavior of *Vitis vinifera* SVP1 and VvEBS, the grapevine homologues of *Arabidopsis* SHORT IN VEGETATIVE PHASE and EARLY BOLTING IN SHORT DAYS, during the bud development) **Almada, R.D.¹**, Cabrera, N.E.¹, Peña-Cortés, H.², Ruiz-Lara, S.¹, González, E.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹ Universidad Técnica Federico Santa María².

Dos genes de vid, *VvSVP1* y *VvEBS*, que codifican putativos represores florales fueron identificados y analizados transcripcionalmente durante el desarrollo de yemas de *V. vinifera* cv. Carmenere, cubriendo importantes eventos ontogénicos como la inducción floral, dormancia y morfogénesis floral. Durante la primera estación de crecimiento, *VvSVP1* y *VvEBS* se expresaron en yemas latentes, mientras que una reducción de los transcriptos de ambos genes fue evidente en yemas dormantes. En la segunda temporada de crecimiento, solo se observó un aumento en la expresión de *VvEBS*. Estos resultados sugieren que la separación estacional en el desarrollo de los meristemas de inflorescencia y florales en vid podría requerir de la participación de represores florales, tales como *VvSVP1* o *VvEBS*, que impidan el desarrollo de los meristemas florales antes del periodo de dormancia. Sin embargo, no podemos descartar nuevos roles para los genes estudiados. Nuestros resultados son discutidos con lo previamente informado en otras variedades de vid y angiospermas. Financiado por: Proyecto Consorcio Biofrutales; R.A y N.C por las becas doctorales de la Universidad de Talca.



41. MICRONUTRICIÓN DE VIDES: CARACTERIZACIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN TRANSPORTE DE ZINC EN BAYAS DE *Vitis vinifera* CV. CARMÉNÉRE. (Vine micronutrition: characterization of genes involved in zinc transport in grapes of *Vitis vinifera* cv. Carménère) **Gainza, F.I.**¹, Perez-Castro, R.A.¹, Blaudez, D.², Peña-Cortés, H.³, Ruiz-Lara, S.¹, González, E.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹ UMR 1136 INRA/UHP-Nancy 1 Interactions Arbres/Microorganismes, Centre INRA de Nancy, F-54280 Champenoux, France². Centro de Biotecnología, Universidad Federico Santa María³.

En *Vitis vinifera*, zinc es un micronutriente esencial cuya deficiencia se manifiesta afectando la fructificación y generando el desarrollo de bayas partenocárpicas no semilladas. Por ello, la absorción y transporte de este metal son procesos de especial relevancia para el desarrollo reproductivo en esta especie. En plantas, los mecanismos de captación y distribución de zinc involucran la participación de una variedad de transportadores que controlan la homeostasis de Zn. Las principales familias génicas que participan en este proceso, están relacionados con la captación de este metal a nivel radicular, su acumulación en organelos y su translocación a los tejidos aéreos (ZIP, MTP y HMA respectivamente). Los genes denominados VvZIP1, VvMTP1 y VvHMA1 que codifican para proteínas similares a transportadores de cada una de las familias descritas han sido identificados en vides. Estudios de complementación en levaduras indican que funcionalmente la proteína codificada por VvZIP1 corresponde a un transportador de entrada de zinc localizado en la membrana plasmática. Al analizar la expresión de estos genes se estableció su expresión en diferentes tejidos de *Vitis vinifera* cv. Carménère incluyendo flores y frutos determinándose que su actividad transcripcional se encuentra reprimida en bayas no semilladas. Lo anterior sugiere una asociación del evento partenocárpico con alteraciones en el transporte y homeostasis de zinc. Financiamiento: Beca de Doctorado Universidad de Talca, Proyecto Genoma Chile G071- 1003.

43. ANÁLISIS TRANSCRIPCIONAL DE GENES INVOLUCRADOS EN LA VÍA BIOSINTÉTICA DE LAS POLIAMINAS DURANTE EL DESARROLLO DE LAS YEMAS EN *Vitis vinifera* cv. Carmenere. (Transcripcional analysis of genes involved in polyamines biosynthesis during bud development in *Vitis vinifera* cv. Carmenere.) **Cabrera, N.**¹, Almada, R.¹, Ruiz-Lara, S.¹, Gonzalez, E.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Talca¹.

Las poliaminas (PAs) constituyen un grupo de moléculas de bajo peso molecular, policatiónicas a pH fisiológico, de presencia ubicua y abundante tanto en plantas como en animales. Estos reguladores del crecimiento han sido implicados en una gran cantidad de procesos fisiológicos. A fin de establecer su participación en el desarrollo reproductivo en vides, en el presente trabajo se analizó mediante qRT-PCR la actividad transcripcional de los genes que codifican para arginina descarboxilasa (ADC), SAM descarboxilasa (SAMDC), espermina sintetasa (SPM Syn), espermidina sintetasa (SPDSyn) y poliamina oxidasa (PAO), enzimas participantes de la vía biosintética y catabólica de las poliaminas. Este análisis se realizó en yemas de *Vitis vinifera* cv. Carmenere a lo largo de su desarrollo cubriendo eventos como la inducción floral, dormancia y el desarrollo floral. En general, elevados niveles de transcritos fueron evidentes en yemas latentes y al momento de la ruptura de yemas, estadios en los que ocurren la inducción y las primeras etapas del desarrollo floral. Tales resultados sugieren un rol de las poliaminas durante el desarrollo reproductivo sexual en *Vitis vinifera*.

42. ANÁLISIS FUNCIONAL DEL PROMOTOR DEL GEN *OsASR2* DE RESPUESTA A ABA Y ESTRÉS ABIÓTICO EN ARROZ. (Functional analysis of the promoter of the *OsASR2* gene involved in ABA and abiotic stress response in rice) **Pérez-Díaz, J.**¹, Hong, C.², Pérez-Díaz, R.³, Casaretto, J.A.³ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile¹. Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taiwan². Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile³.

Parte de la respuesta de las plantas a condiciones de estrés abiótico, implica la regulación de la expresión de genes que codifican para proteínas reguladoras y proteínas con función en la protección contra el estrés. Entre los genes con función aún desconocida, se encuentran aquellos que codifican para las proteínas ASR, inducidos por la hormona ácido abscísico (ABA), estrés y maduración en frutos. Con el propósito de determinar el papel de estas proteínas en la respuesta a estrés abiótico, se ha iniciado el estudio de algunos genes homólogos en cereales. En el presente trabajo se presentan resultados sobre uno de ellos, *OsASR2*. Análisis de expresión mediante qPCR mostraron que *OsASR2* presenta niveles basales de transcrito en todos los tejidos analizados. Además, su expresión es inducida por la aplicación exógena de ABA en tejidos aéreo y radicular. Para examinar con detalle la regulación de *OsASR2* en condiciones de estrés y en diferentes tejidos, se aisló la región promotora de este gen a partir de ADN genómico, la que fue fusionada al gen de la β -glucuronidasa (*GUS*) y generar plantas transgénicas de arroz mediante transformación con *Agrobacterium*. Se obtuvo un total de 24 líneas transgénicas, las cuales mostraron actividad *GUS* al evaluarse mediante ensayos histoquímicos. La expresión específica del transgén fue detectada en callos, raíces, inflorescencias y semillas. Estas características de los promotores ASR podrían ser útiles en aplicaciones biotecnológicas. Agradecimiento: Beca Conicyt de pasantía en el extranjero para J.P.D.

44. VvNAP, UN GEN DE LA FAMILIA NAC, QUE SE EXPRESA DURANTE EL PROCESO REPRODUCTIVO Y EN LA SENESCENCIA DE *Vitis vinifera* (VvNAP a gene that is expressed during the reproductive and senescence processes of *Vitis vinifera*) **Leiva-Ampuero, A.**¹, Poupin, M.J.¹, Vega, A.¹, Arce-Johnson, P.¹ Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Los genes de la familia *NAC* codifican para factores de transcripción que están involucrados en distintos procesos del desarrollo de la planta. Estos genes han sido estudiados en herbáceas modelo, sin embargo, no han sido descritos en especies lenosas de ciclos de vida largo. Nosotros estamos interesados en la caracterización funcional del factor de transcripción *NAP* (*NAC activated by PII/AP3*) en *Vitis vinifera*. En esta investigación se aisló, clonó y secuenció un cDNA que, por homología de secuencia, análisis filogenéticos y estudios *in silico* de dominios característicos se denominó *VvNAP*. Por medio de RT-PCR en tiempo real se determinó la expresión del gen en distintos tejidos y estados fisiológicos de la planta, en donde se encontró alta expresión en tejido reproductivo y en hojas senescentes. Por otro lado, estudios de expresión global mediante microarreglos de Affymetrix indicaron que este gen posee una mayor expresión en bayas de vid infectadas por el virus GLRaV-3. Finalmente, análisis de expresión heteróloga permitirán confirmar la participación de este gen en los distintos procesos fisiológicos estudiados. Agradecimientos a: Consorcio de la Fruta Proyecto Mejoramiento Genético de la Vid y al Proyecto Genoma 2.

45. FUNCIÓN DE LA FITOHORMONA CITOQUININA EN LA RESPUESTA DE LA RAÍZ DE *Arabidopsis thaliana* A NITRATO.

(The role of cytokinin in the root response to nitrate in *Arabidopsis thaliana*.) **Naulin, P.**^{1,2}, Tamayo, K.¹, Gutiérrez, R.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, P. Universidad Católica de Chile².

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, los mecanismos moleculares involucrados en esta respuesta son poco conocidos. Diversos trabajos sugieren que las hormonas vegetales, como citoquininas, juegan un papel central en la respuesta a nitrato. En este trabajo analizamos mutantes en la percepción y biosíntesis de citoquininas bajo diversas condiciones nutricionales. Ambos tipos de mutantes presentaron defectos en el crecimiento de la raíz principal en presencia de nitrato como única fuente de N, indicando que las citoquininas son requeridas para la estimulación del crecimiento de la raíz primaria inducida por nitrato. Análisis histológicos de punta de raíz demostraron que el fenotipo observado no sólo se debe a alteraciones en la división y/o elongación celular en esta zona sino también a una alteración en las características del patrón celular. Las puntas de las raíces de plantas mutantes presentaron una disminución en el tamaño de la zona división y elongación celular comparado a las plantas tipo silvestre en la condición N. Además estas plantas no presentaron el patrón celular característico de la punta de la raíz, sino que mostraron tejido diferenciado. Estos resultados sugieren que las citoquininas son importantes para establecer el patrón celular correcto de la raíz en plantas crecidas con nitrato como única fuente de N en el medio. Agradecimientos: FONDECYT (1060457), Núcleo Milenio P06-009-F, ICGEB CRPCHI0501, NIH-FIRCA 1R03PW007823-01A1 F614-01.

47. CLONAMIENTO Y EXPRESIÓN HETEROLOGA DE LA PROTEÍNA α -A11: UN INHIBIDOR DE α -AMILASA PANCREÁTICA HUMANA (Cloning and heterologous expression of α -A11 protein: a human pancreatic α -amylase inhibitor) **Brain-Isasi, S.**¹, Alvarez-Lueje, A.², Corsini, G.¹ Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales¹. Laboratorio de Farmacoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile².

La proteína α A11 está presente en diversas variedades de poroto (*Phaseolus vulgaris*, L.) y es capaz de inhibir la enzima α -amilasa humana pancreática y salival. Dado que la inhibición de esta enzima es un importante blanco farmacológico, y que la extracción de α A11 a partir de semillas de poroto requiere una gran cantidad de materia prima, la producción de esta proteína en un sistema heterólogo ofrece un gran potencial de desarrollo. En este trabajo se presenta el clonamiento y expresión del gen que codifica para α A11 en *Escherichia coli*. Con el fin de obtener el gen que codifica para α A11, se extrajo DNA genómico de *P. vulgaris* a partir de brotes de semillas de origen comercial y se amplificó el gen mediante PCR con primarios específicos, el cual se clonó en el vector pCR2.1-TOPO y se transformó en *E. coli* DH5- α . Se extrajo el plasmidio de las colonias blancas seleccionadas y se confirmó la presencia del gen que codifica para α A11 mediante análisis de restricción, PCR y secuenciación. Con el fin de expresar la proteína, el plasmidio con el gen de α A11 recombinante se transformó en *E. coli* BL21(DE3). La expresión de la proteína fue inducida con IPTG 10mM, tomándose alícuotas de cultivo entre 1 y 4 horas post-inducción. Se lisaron las bacterias con ciclos de frío y calor y se recuperó de los lisados de *E. coli* una actividad inhibitoria de α -amilasa pancreática. Agradecimientos: Beca CONICYT de Doctorado.

46. ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA MORERA DE PAPEL (*Broussonetia papyrifera*) EN EL PACÍFICO MEDIANTE AFLP E ITS (Genetic variability of paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*), in the Pacific using AFLP and ITS.) **Oyanedel, N.**¹, Piña, R.², Seelenfreund, D.¹, Seelenfreund, A.³, Lobos, S.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, UMCE, Santiago, Chile.² Escuela de Antropología, Universidad Academia de Humanismo Cristiano, Santiago, Chile.³

Analizamos la variación genética de *B. papyrifera* como herramienta para dilucidar interrogantes acerca de la ruta migratoria trazada por los primeros colonizadores polinesios hacia la Isla de Pascua. Esta planta originaria de Asia fue transportada como parte del acervo cultural de las poblaciones austronésicas que colonizaron Oceanía, llegando a Rapanui hace unos 1200 años, por lo cual es de utilidad como trazador de la migración humana en el Pacífico. Recolectamos hojas de localidades en Rapanui, islas Marquesas, Tahiti, Pitcairn, Tonga, Samoa, Fiji, Hawaii y Taiwán. Desarrollamos un protocolo de extracción de DNA y utilizamos dos tipos de análisis: AFLP ("Amplified Fragment Length Polymorphism") y secuenciación de la región ITS ("Internal Transcribed Sequences") de los genes rRNA. Mediante AFLP se observó heterogeneidad intra- e inter-islas, la cual no fue apreciable al analizar ITS. Este resultado era esperable debido a que con AFLP se generan marcadores a partir de todo el DNA genómico, en cambio ITS representa sólo una región particular de éste. El alineamiento de ITS mostró heterogeneidad entre localidades de Taiwán, región originaria de esta especie, lo que explicaría una mayor variabilidad genética en esta isla, en comparación a las otras. Nuestros resultados muestran la utilidad de estas estrategias experimentales para construir relaciones filogenéticas, siendo una clara alternativa para dilucidar interrogantes que no pueden resolverse satisfactoriamente mediante herramientas arqueológicas tradicionales. FONDECYT 1080061.

48. CLONAMIENTO, EXPRESIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA ESPERMÁTICA LISINA DE ABALÓN ROJO *Haliotis rufescens* Y SUS POTENCIALES USOS EN ACUICULTURA. (Cloning, expression and purification of sperm lysin of red abalone (*Haliotis rufescens*) and their potential uses in aquaculture.) **Valenzuela, V.**^{1,2}, Uribe, E.A.¹, Astuya, A.³, Gallardo-Escarate, C.^{2,4} Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Cs. Biológicas¹. Centro de Biotecnología². Lab. Genómica Marina y Cultivo Celular, Unidad de Biotecnología Marina. Facultad de Cs. Naturales y Oceanográficas³. Dpto. Oceanografía. Facultad de Cs. Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción⁴.

El proceso de reconocimiento de gametos es una de las etapas primordiales en la fecundación, mediado por proteínas de reconocimiento específico presentes en células reproductivas masculinas y femeninas. En la fecundación de abalones participan dos proteínas en el reconocimiento gamético; la lisina, proteína acrosomal de 16 kDa que genera un agujero la envoltura vitelina uniéndose especie-específicamente a un receptor de membrana presente en la envoltura vitelina. Los abalones son una especie de gran valor comercial, por lo que es necesario incrementar esfuerzos para la optimización los métodos fecundación en acuicultura. Se ha observado además que el 79% de los huevos fecundados son por aporte de un macho, generando pérdida de variabilidad genética. El objetivo de este trabajo fue aislar el ARNm, clonar y expresar el gen de la proteína espermática lisina. Para ello se realizó extracción de ARN desde tejido gonadal de un macho de abalón rojo, seguido de la síntesis de ADNc y la amplificación del gen de la lisina, el que fue clonado en el vector de clonación TOPO-TA y subclonado en el vector de expresión H6pQE60, los clones fueron secuenciados para verificar la inserción del gen de lisina. Luego se indujo la expresión de la proteína recombinante con IPTG, para su posterior purificación por cromatografía en columna de afinidad. Se discute la utilización de esta proteína para mejorar las tasas de fecundación, así como para disminuir la competencia espermática. FONDEF D0611027.



49. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN POSIBLE COTRANSPORTADOR CATION-CLORURO EN *Vitis vinifera*

(Identification and characterization of a putative cation-chloride cotransporter in *Vitis vinifera*) **Rodríguez, A.**¹, Canon, P.¹, Arce-Johnson, P.¹ Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

El cloro es un micronutriente esencial para las plantas ya que participa en procesos como la fotosíntesis, regulación del potencial osmótico de vacuolas y mantención del pH intracelular, entre otros. Frente a un exceso de Cl⁻ en el medio, este se acumula al interior de las células vegetales, alterando la disponibilidad y distribución de otros iones como Na⁺ y K⁺. Se han caracterizado algunos genes involucrados en el transporte de Cl⁻ en plantas, entre los cuales se encuentra *AtCCC*, un cotransportador Na⁺-K⁺-2Cl⁻ de *Arabidopsis thaliana* cuya función es mantener la homeostasis de este ion. A partir de la secuencia de *AtCCC*, se amplificó, clonó y secuenció un cDNA de *Vitis vinifera* de 2878 pb al cual denominamos *VvCCC*. Este presenta una homología de 73,4% con el cDNA de *AtCCC*. Análisis *in silico* agrupan a *VvCCC* en el clado de cotransportadores cation-cloruro (CCCs) de plantas. *VvCCC* codifica una proteína predicha que posee un codón de término prematuro. Esto se debe a la ausencia de un fragmento de 71 pb en el cDNA obtenido, en comparación al modelo genético descrito en la base de datos de NCBI. Este fenómeno podría explicarse por un posible splicing alternativo del mRNA de este gen. Los patrones de expresión del gen fueron analizados en distintos tejidos de vid y frente a diferentes tratamientos salinos. Agradecimientos: Consorcio de la Fruta, Proyecto Mejoramiento Genético de la Vid; Núcleo Milenio en Genómica Funcional de Plantas.

51. IDENTIFICACIÓN DE UN PUTATIVO TRANSPORTADOR DE NUCLEÓTIDO-AZÚCAR DE *Arabidopsis thaliana* INVOLUCRADO EN LA BIOSÍNTESIS DE MUCÍLAGO EN SEMILLAS.

(Identification of a putative nucleotide-sugar transporter of *Arabidopsis thaliana* involved in the biosynthesis of mucilage in seeds) **Moreno, I.**¹, Blanco, F.¹, Temple, H.¹, Orellana, A.¹ Núcleo Milenio en Biotecnología Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello¹.

Los transportadores de nucleótido-azúcar (NSTs) son responsables de la incorporación en el aparato de Golgi de los nucleótidos-azúcar requeridos para la biosíntesis de polisacáridos complejos que forman la pared celular en plantas. Hasta ahora pocos genes codificantes de NSTs han sido caracterizados, debido a la complejidad y aparente redundancia de estos en el genoma vegetal. Nuestros esfuerzos han permitido identificar un putativo transportador involucrado en la biosíntesis del mucílago, una estructura que está presente en semillas maduras, y que cumple funciones, tales como, ayudar en la hidratación, el reclutamiento de microorganismos, y la protección contra perturbaciones del ambiente. En nuestro trabajo hemos determinado que en plantas de *Arabidopsis thaliana*, la ausencia de este transportador provoca serias alteraciones en la composición del mucílago en semillas maduras, sugiriendo así, que los transportadores de nucleótido-azúcar juegan un papel importante en la biosíntesis de polisacáridos que forman esta estructura. El producto de este gen se encuentra fuertemente expresado durante el desarrollo de las semillas, situación que coincide con la aparición del mucílago. Por otro lado, co-expresa con genes involucrados en la formación de ramnogalacturonano I, el principal polisacárido presente en esta estructura. De esta forma es muy posible que este putativo transportador este involucrado en la síntesis de este polímero. Financiado por proyecto Fondecyt 1070379, Núcleo Milenio en Biotecnología Celular Vegetal PCB-MN ICM P06-065-F y Proyecto Basal PFB-16. Becario CONICYT.

50. ANÁLISIS BIOQUÍMICO DE ATSDL, UN SUPUESTO DESHIDROGENASA DE POLIALCOHOLES, DE *Arabidopsis thaliana*

(Biochemical analysis of AtSDL, a putative polyalcohol dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana*) **Mandujano, P.**¹, Severin, D.¹, Aguayo, F.¹, Handford, M.¹ Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

Polialcoholes, incluyendo sorbitol, manitol y xilitol cumplen varios papeles en plantas, por ejemplo en el transporte de carbono y como solutos compatibles. La síntesis y degradación de estos compuestos ha sido estudiado y varias deshidrogenasas NAD-dependiente de sorbitol (SDH) han sido caracterizadas. Aunque sorbitol es el sustrato principal de estas SDHs, también otros polialcoholes son oxidados. En *Arabidopsis thaliana*, una especie con bajos niveles de varios polialcoholes, hemos identificado un supuesto SDH, AtSDL. AtSDL comparte >75% de identidad aminoácida con SDHs vegetales descritas. Nuestro objetivo es caracterizar bioquímicamente esta enzima. Análisis *in silico* destaca la presencia de elementos de respuesta conservados en la región promotora de AtSDL. Ensayos de RT-PCR demostraron que se expresa AtSDL en múltiples órganos y al realizar un análisis preliminar de una línea de *Arabidopsis* transformada con una fusión promotor-GUS, se mostró por ejemplo que se restringe la expresión en flores a los sépalos y filamentos. Expresión transitoria de AtSDL-GFP en tabaco demostró que la proteína se localiza en el citosol, consistente con la localización de SDHs descritas y con el análisis *in silico* de la secuencia peptídica. Para determinar la especificidad de sustrato de la enzima, AtSDL-His fue sobre-expresada en *Escherichia coli*. Luego de su purificación, y bajo condiciones denaturantes, AtSDL-His fue capaz de oxidar sorbitol. Actualmente, se están realizando ensayos con otros sustratos. Además, modelamiento 3D y estudios de *docking* molecular indicaron que NAD es un factor adecuado, un hallazgo que fue confirmado experimentalmente.

52. ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES CANDIDATOS INVOLUCRADOS EN LA TOLERANCIA A METALES EN DISTINTOS GENOTIPOS DE ALAMO (*Populus spp.*)

(Expression analysis of candidate metal tolerance genes in different poplar genotypes (*Populus spp.*) **Pérez C, R.**¹, Gainza, F.¹, González, E.¹, Fernando, G.² Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca¹. Depto. de Cs. Forestales, Universidad Católica del Maule.²

Los organismos vegetales requieren numerosos elementos traza, como por ejemplo, Zn, Fe, Cu, Mn, Mo y Ni, para el normal funcionamiento de procesos bioquímicos asociados a su desarrollo y reproducción. Sin embargo, la acumulación de estos micronutrientes en la planta puede conducir a una absorción de elementos químicamente similares no esenciales y tóxicos, como el Cd. Altas concentraciones de este tipo de elementos pueden desencadenar eventos de toxicidad, produciendo estrés oxidativo que alteran el balance de los procesos vitales de la planta. La tolerancia de algunas especies vegetales a altas concentraciones de estos elementos está dada por su facultad para excluirlos o almacenarlos en tejidos, órganos o compartimentos subcelulares. Este estudio se enfocó en caracterizar la expresión de dos genes candidatos asociados a tolerancia y detoxificación de metales en plantas (metal tolerance protein, *MTP4* y heavy metal P-type ATPase 5, *HMA5*), en alamos expuestos a altas concentraciones de Cu, Zn y Cd. Para ello se utilizaron dos genotipos con respuestas fenotípicas contrastantes a exceso de Cu y se relacionaron los patrones de expresión génica con la acumulación de estos elementos en el tejido aéreo. Financiamiento: Proyecto ECOS-CONICYT C05B06.

53. FUNCIÓN DE TGA1 Y TGA4 EN LA RESPUESTA A NITRATO DE LA RAÍZ DE *Arabidopsis thaliana* (Role of TGA1 and TGA4 in the nitrate response of *Arabidopsis thaliana* root.) Alvarez, J.M.¹, Flores, F.¹, Tamayo, K.¹, Gutiérrez, R.¹ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

En suelos agrícolas, nitrato es la fuente de nitrógeno más importante. El nitrato modula la arquitectura de la raíz de las plantas y controla la expresión de cientos de genes en *Arabidopsis thaliana*. En un esfuerzo por identificar reguladores maestros de la respuesta génica a nitrato, realizamos un análisis bioinformático para identificar candidatos en el genoma de *Arabidopsis*. Utilizando los datos de micromatrices de tratamientos con nitrato disponibles públicamente y considerando una serie de parámetros de selección de genes con potencial regulatorio, obtuvimos un ranking de posibles reguladores de la respuesta a nitrato. El primer gen del ranking obtenido fue el factor de transcripción TGA1. Presente en el ranking aparece también TGA4, que tiene estrecha relación funcional con TGA1. Ambos genes responden rápida y fuertemente a nitrato y a metabolitos río abajo de su reducción. Análisis de plantas mutante doble en *tga1/tga4* bajo distintas condiciones de crecimiento reveló que en condiciones de suficiencia de nitrato presentan una raíz principal más corta en comparación con la planta silvestre. Sin embargo, este fenotipo no es observado bajo concentraciones limitantes de nitrato. Para darle una explicación molecular a este fenómeno, evaluamos la expresión de putativos genes blanco de TGA1 y TGA4 y demostramos que su inducción por nitrato es dependiente de estos factores de transcripción. Estos resultados sugieren que TGA1 y TGA4 serían reguladores importantes en la respuesta de las raíces de *Arabidopsis* a nitrato. Agradecimientos: Núcleo-Milenio-P06-009-F, NIH-FIRCA-1R03PW007823-01A1 F614-01, FONDECYT-1060457, ICgeb-CRPCHI0501 y Becas-CONICYT.

55. MUTAGÉNESIS SITIO-DIRIGIDA DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN CsACE1 DE *Ceriporiopsis subvermispora* (Site-directed mutagenesis of the transcription factor CsACE1 from *Ceriporiopsis subvermispora*.) Essus, K.¹, Campbell, H.¹, Roman, P.¹, Fuentes, A.¹, Bull, P.¹. Dpto. Genética Molecular y Microbiología Facultad de Ciencias Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

En *Saccharomyces cerevisiae* se ha descrito el factor de transcripción ACE1, involucrado en la capacidad de la levadura de crecer en presencia de cobre 200 μ M. Disponemos del cDNA de los factores de transcripción ortólogos CsACE1 de *Ceriporiopsis subvermispora* (cDNA 1000 pb) y PcACE1 de *Phanerochaete chrysosporium* (2000 pb). Ellos fueron obtenidos por complementación en una cepa *ace1 Δ* de *Saccharomyces cerevisiae*, que no es capaz de crecer en un medio con cobre. CsACE1 y PcACE1 poseen el sitio de unión a DNA en su extremo amino terminal. Sin embargo, difieren en el resto de su secuencia; CsACE1 carece de tres arreglos de cisteínas presentes en PcACE1. El propósito de este estudio es localizar el sitio de transactivación de CsACE1, siguiendo una estrategia similar a la utilizada con PcACE1. Se construye una quimera con el dominio de unión a DNA de GAL4 y el fragmento del cDNA a analizar, bajo el control del promotor ADH. Sin embargo, para ello es indispensable eliminar los dos sitios BamH1 presentes en el cDNA de CsACE1. Esto se realizó, y se confirmó la eliminación de ambos sitios por digestión con enzimas de restricción y por secuenciación. Financiado por Proyecto FONDECYT 1085236.

54. BÚSQUEDA DE GENES BLANCO DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN TGA1 Y TGA4 EN LA RESPUESTA A NITRATO EN RAÍCES DE *Arabidopsis thaliana*. (Searching for target genes of TGA1 and TGA4 transcription factors in the nitrate response of *Arabidopsis thaliana* root.) Riveras Hernández, E.J.¹, Alvarez, J.M.¹, Gutiérrez, R.¹ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Nitrógeno es un macronutriente esencial para las plantas. En suelos agrícolas, nitrato es la fuente de nitrógeno más importante. Experimentos de micromatrices realizados en *Arabidopsis thaliana* muestran que nitrato controla la expresión de cientos de genes involucrados en un amplio rango de procesos. No obstante, los mecanismos de percepción y transducción de señales no han sido identificados. Con el fin de identificar potenciales reguladores de la respuesta génica a nitrato, el laboratorio realizó un análisis bioinformático para identificar reguladores maestros de la respuesta a Nitrógeno. El gen con mayor potencial fue el factor de transcripción TGA1. TGA1 es un factor de transcripción tipo bZIP y su secuencia de unión al DNA es "TGACG". Se ha determinado que TGA1 y TGA4 presentan redundancia funcional y poseen un alto grado de similitud de secuencia. Como una aproximación para estudiar la función e identificar posibles genes blanco de TGA1 y TGA4 en respuesta a nitrato elaboramos una aproximación bioinformática. Mediante estudios de correlación de expresión génica encontramos genes que co-expresan con TGA1 y TGA4 en respuesta a tratamientos con nitrato. Además, generamos una lista de genes que presentan el motivo de unión a TGA1 y TGA4 en su secuencia promotora. Como resultado de la intersección entre ambas listas, obtuvimos posibles genes blanco de TGA1 y TGA4. Consistente con esta predicción, demostramos que la regulación de la expresión génica en respuesta a tratamientos con nitrato de estos genes depende de TGA1 y TGA4.

56. ANÁLISIS FUNCIONAL DE GONST3, UN TRANSPORTADOR DE NUCLEOTIDO-AZÚCAR DE *Arabidopsis thaliana* (Functional analysis of GONST3, a nucleotide-sugar transporter of *Arabidopsis thaliana*) Ampuero, D.¹, Miranda, J.P.¹, Huichalaf, M.¹, Handford, M.¹ Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

Mediante genética reversa hemos identificado GONST3, un transportador de nucleotido-azúcar (TNA) de *Arabidopsis thaliana*. Este transportador comparte las características moleculares reportadas para los TNAs que transportan GDP-azúcares, pero no UDP-azúcares. GONST3 pertenece a una familia de proteínas transportadoras específicas, requeridas para el importe de nucleotido-azúcares desde el citosol hacia el lumen del aparato de Golgi, los que son usados posteriormente para la síntesis y/o modificación de polisacáridos no-celulósicos y glicoproteínas. Nuestro trabajo está focalizado en determinar la especificidad de sustrato y analizar el papel *in planta* de GONST3. Hasta la fecha se han realizado fusiones C-terminales, las cuales no fueron funcionales luego de la transformación transitoria de hojas de tabaco mediante agroinfiltración. Por esta razón, actualmente se están generando fusiones N-terminales. La construcción GFP-GONST3 permitirá determinar la localización subcelular por microscopía de fluorescencia, mientras que después del fraccionamiento subcelular de tabaco transformado transitoriamente con Flag-GONST3 se quiere determinar la especificidad de sustrato mediante ensayos de transporte. Para determinar su función *in vivo*, niveles de GONST3 fueron reducidos por silenciamiento genico post-transcripcional por cosupresión, y se está analizando la morfología y composición de la pared celular de estas líneas. Líneas transformadas de *Arabidopsis* con una fusión promotor: GUS mostraron una expresión sistémica a lo largo de todo el desarrollo de la planta, con mayores niveles en hojas, tallos y raíces. El único tejido donde no se observó tinción fue en pétalos. Financiamiento: Fondecyt Iniciación 11060470.

57. ANÁLISIS FUNCIONAL DEL PROMOTOR DE AtGRXC9, UN GEN DE RESPUESTA TEMPRANA A SA (Functional promoter analysis of AtGRXC9, an early SA induced gene) **Herrera, A.**¹, Blanco, F.¹, Carvallo, L.¹, Holiuque, L.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. ¹. Las glutaredoxinas son una familia de oxidoreductasas que usan el glutatión (GSH) para la protección de proteínas contra el daño oxidativo. GRXC9, que codifica para una glutaredoxina de *Arabidopsis thaliana*, fue identificado por nuestro laboratorio como un gen altamente inducido por ácido salicílico (SA), una hormona asociada a la respuesta de defensa a estrés. Análisis de expresión indican que GRXC9 requiere de la subclase II de factores de transcripción bZIP TGA (2/5/6). Utilizando el software Motifsampler se encontró sobrerrepresentado en un grupo de promotores al elemento tipo *as-1* que ha sido descrito previamente como un elemento de respuesta a SA. El promotor de GRXC9 contiene 2 putativos elementos tipo *as-1* en la región proximal. La funcionalidad de estos elementos fue analizada mediante la evaluación in vivo de la expresión del gen reportero GUS, controlado por la versión completa del promotor, versiones truncas y mutantes sitio-específicas. Además, mediante estudios in vivo (CHIP) se determinó la unión de los factores TGA a estas secuencias y por ensayos de doble híbrido se analizó la interacción que existe entre estos factores de transcripción. Nuestros resultados indican que los putativos elementos tipo *as-1* del promotor de *AtGRXC9* son motivos importantes para la activación transcripcional mediada por factores TGA, en respuesta a SA. Financiado por FONDECYT-CONICYT (1060494), Núcleo Milenio de Genómica funcional de Plantas (P06-009-F).

59. EVOLUCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ALCOHOL ACILTRANSFERASA DURANTE EL DESARROLLO DE FRUTILLA CHILENA (*Fragaria chiloensis* L. Duch.) Y FRUTILLA COMERCIAL (*Fragaria x ananassa*). (Evolution of strawberry alcohol acyltransferase activity during fruit development in *Fragaria chiloensis* L. Duch. and *Fragaria x ananassa*.) **González, M.**¹, Gaete Eastman, C.¹, Valdenegro, M.¹, Fuentes, L.¹, Herrera, R.¹, Moya-León, A.¹. Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular, IBVB, Universidad de Talca.¹. El desarrollo del aroma es uno de los cambios más importantes que ocurren durante el proceso de maduración y definen en gran medida la calidad organoléptica de las frutas. De los compuestos volátiles que conforman el aroma de frutilla (*Fragaria x ananassa*), los ésteres son cuantitativamente y cualitativamente los más importantes, debido a que poseen el mayor impacto sensorial y a que entregan las notas dulces y florales características para esta fruta. Los ésteres son generados por una reacción de transacilación de acil-CoAs a un alcohol, reacción catalizada por la enzima alcohol aciltransferasa (AAT). Resultados obtenidos previamente para la especie endémica, (*Fragaria chiloensis*), han demostrado la participación relevante de esta enzima en la generación del aroma, esto mediante el incremento en la actividad de la enzima y en la expresión del gen durante el transcurso de la maduración. En el presente estudio se analizó el perfil de actividad para la enzima alcohol aciltransferasa (AAT) a lo largo del desarrollo y maduración de *Fragaria x ananassa*, y se determinó el nivel de expresión del gen mediante PCR en tiempo real para ambas especies. Financiamiento: Proyecto Anillo ACT-41.

58. POLÍMEROS DE PECTINAS CAMBIAN SU ESTRUCTURA DURANTE EL DESARROLLO Y MADURACIÓN DE *Fragaria chiloensis* Y *Fragaria x ananassa*. (Polymers of pectins change its structure during the development and ripening of *Fragaria chiloensis* and *Fragaria x ananassa*.) **González-Fernández-Niño, S.**¹, Pauly, M.², Orellana, A.¹. Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello¹, DOE-Plant Research Lab. Michigan State University, East Lansing, MI, USA². El ablandamiento de los frutos durante la maduración se produce principalmente por la pérdida de la estructura y los cambios en la composición de la pared celular. Los cambios en la textura de la pulpa del fruto se han atribuido a la solubilización parcial o completa de los polisacáridos que lo constituyen. La pared celular se compone principalmente de polisacáridos, que mostraron ser modificados durante el desarrollo y la maduración de frutos. En la degradación de la pared celular de *F. x ananassa* (Fa) y *F. chiloensis* (Fc), al igual que en otras frutas como tomate, melón, manzanas, duraznos y uvas, las pectinas son uno de los principales polisacáridos que participan en el cambio en la textura durante la maduración del fruto. La solubilización de pectinas sería el proceso que más contribuye al ablandamiento de la pulpa, sin descartar la participación de hemicelulosas en el proceso de desmontaje de la pared celular. Nuestros resultados indican que ramnogalacturonano I, es el polisacárido que sufriría los mayores cambios durante el desarrollo y la maduración de *F. chiloensis* y *F. x ananassa* cv. Camarosa. Además, se observó diferencias significativas en la presencia en la pared del monosacárido galactosa entre ambas especies de frutilla analizadas, lo que puede indicar diferencias en polímeros pécticos como galactanos. Financiamiento: Proyecto Basal PFB-16, Proyecto Mecsup UAB602, Proyecto Interno UNAB DI-06-01-I, Beca Investigación UNAB, Beca Investigación Extranjero CONICYT.

60. INDUCCIÓN DE LA EXPRESIÓN DE FERULATO 5-HIDROXILASA EN *Eucalyptus globulus* (Wound induction expression ferulate 5-hydroxylase in *Eucalyptus globulus*) **García, R.**¹, Rodríguez, J.¹, Balochi, C.², Elissethe, J.³, Valenzuela, S.¹. Facultad de Ciencias Forestales, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción¹. Bioforest SA². Genómica Forestal SA, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción³. **Patrocinante: Uribe, E.A.** La enzima ferulato 5-hidroxilasa (F5H; EC1.14.13) es una citocromo P450 monooxigenasa dependiente que cataliza la 5-hidroxilación de coniferaldehído, esta es una etapa clave en la producción de unidades siringilo en la síntesis de lignina. La identificación del gen y la proteína F5H en *Eucalyptus globulus* es importante, debido a que esta enzima influye directamente en la relación de monolignoles de siringilo/guayacilo, lo cual afecta el proceso de deslignificación que actualmente tiene un gran impacto económico en la industria de pulpa y papel. Recientemente hemos reportado la secuencia genómica de F5H de *E. globulus* en el GEN BANK (numero de acceso FJ969838) la cual, contiene dos regiones codificantes para una proteína de 530 aminoácidos. En el presente trabajo se estudio la expresión de transcritos de F5H por tratamiento mecánico o heridas en el tejido cambial de arboles de *E. globulus* utilizando la técnica de PCR en tiempo real. Los resultados obtenidos indicaron que los niveles de expresión de F5H de *E. globulus* incrementaron tres veces después de la inducción. El significado funcional de la estimulación causada por heridas no es muy conocido en *E. globulus*. No obstante en otras especies, se reportan aumentos de compuestos polipropanoides incluyendo precursores de lignina como una medida de autoprotección. El incremento en la expresión de F5H observado en este estudio, sugiere que *E. globulus* podría aumentar la síntesis de lignina como una respuesta a daño mecánico.

61. *Arabidopsis thaliana* SE ASOCIA A BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO LAS CUALES PROMUEVEN SU CRECIMIENTO EN CONDICIONES LIMITANTES DEL MACRONUTRIENTE. (*Arabidopsis thaliana* associates with nitrogen fixing bacteria which promote its growth under nitrogen deprivation condition.) **Kraiser, T.¹**, González, B.¹, Gutiérrez, R.² Depto. Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹. Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Adolfo Ibáñez, Santiago, Chile².

Nitrógeno (N) es un macronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Las bacterias fijadoras de N (fixN) son importantes para la incorporación de formas de N asimilables para las plantas tanto en ecosistemas naturales como en sistemas agrícolas. Aún cuando se ha descrito la presencia de fixN en plantas no leguminosas, la importancia nutricional de esta asociación y los mecanismos moleculares involucrados en la interacción fixN:planta no leguminosa se desconocen. *Arabidopsis thaliana* es una planta no leguminosa y el modelo más importante para estudios moleculares en biología vegetal. El objetivo de este estudio es determinar si *A. thaliana* se asocia de forma natural a bacterias endófitas fixN. También evaluaremos el efecto de bacterias fixN sobre el crecimiento de esta planta no leguminosa en condiciones limitantes de N. Utilizando técnicas para la identificación de endófitas y la amplificación de un gen marcador (nifH) de bacterias FixN, hemos determinado la presencia de bacterias fixN al interior de *Arabidopsis*. Mediante métodos cultivo dependiente se determinó que estas bacterias se encuentran tanto en el tejido aéreo como en las raíces de estas plantas. Además, se determinó que estas bacterias se encontrarían al interior de las semillas, lo cual sugiere transmisión vertical de este grupo funcional de bacterias en *Arabidopsis thaliana*. Resultados preliminares indican que esta asociación es funcional y aportaría en la nutrición de la planta. Agradecimientos: FONDECYT (1060457), Núcleo Milenio P06-009-F y Beca de estudio doctorado CONICYT.

63. AUMENTO EN EL TRÁFICO VESICULAR INTRACELULAR CORRELACIONA CON NIVELES DE EXPRESIÓN DEL TRANSGEN LchGDI1 EN *Solanum lycopersicum*. (Correlation between the increase of the vesicular trafficking and expression levels of the transgene *LchGDI1* in *Solanum lycopersicum*) **Marín, A.¹**, Verdugo, I.², Norambuena, L.³, Ruiz-Lara, S.² Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Talca, Chile¹. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Talca, Chile². Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Las Palmeras 3425 Ñuñoa, Santiago, Chile³.

Desde la especie de tomate silvestre *Solanum chilense* (Dunal) Reiche, fue aislado el gen *LchGDI1* cuya expresión se incrementa bajo estrés hídrico y salino. Este gen posee una alta homología con los genes que codifican para la proteína inhibidora de la disociación de guanina (GDI) y que pertenecen al tipo RabGDI. Tanto las proteínas Rab, como las GDI, cumplen roles esenciales en el transporte vesicular intracelular. Si bien es cierto, la endocitosis y el tráfico vesicular en general, han sido considerados tradicionalmente como funciones básicas, tanto en animales como en vegetales, últimamente han aumentado los reportes donde se las relaciona con tolerancia a estreses medioambientales. En función de lo anterior, en el presente trabajo presentamos los resultados del análisis del nivel transcripcional de la construcción 35S-*LchGDI1* en tres líneas transgénicas de *Solanum lycopersicum* v. MoneyMaker, las que mostraron diferentes grados de tolerancia a la salinidad en ensayos preliminares de cultivo *in vitro*. Además, se muestra la estimación preliminar del tráfico vesicular en las raíces de estas plantas, midiendo el curso temporal de la endocitosis, observando para ello el marcador FM4-64 mediante microscopía confocal. Los resultados sugieren una directa relación entre el grado de tolerancia al estrés salino, la tasa transcripcional del gen *LchGDI1* y número de endocitosis radicular. Financiado por el Programa de Investigación -Biotecnología de Solanáceas- de la Universidad de Talca.

62. CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y ANÁLISIS TRANSCRIPCIONAL DEL GEN VvZFC Y UN GEN QUE CODIFICA PARA UN PUTATIVO RECEPTOR QUINASA, AMBOS INVOLUCRADOS EN EL DESARROLLO FRUTAL DE *Vitis vinifera* CV. CARMÉNERE (Structural characterization and transcriptional analysis of the gene VvZFC and a putative receptor kinase gene Involved in fruit development in *Vitis vinifera* cv. Carménere) **González, S.¹**, Mendoza, H.¹, Peña-Cortés, H.², Ruiz-Lara, S.¹, González, E.¹ Universidad de Talca¹ Universidad Federico Santa María².

Vitis vinifera cv. Carménere ha sido caracterizada como una variedad con alta tendencia al desarrollo de frutos partenocárpico, lo que redundaría en la producción de bayas semilladas y bayas no semilladas dentro de un mismo racimo. Como primera aproximación a la caracterización de los eventos genético-moleculares involucrados en tal fenómeno, los perfiles de expresión de aproximadamente 4.800 genes fueron analizados tanto en bayas semilladas como no semilladas. El análisis comparativo de los perfiles de expresión entre ambos tipos de bayas, mostró que un número importante de genes diferencialmente expresados codifican para proteínas que no han sido caracterizadas *in vivo*. Uno de ellos, el gen VvZFC (Zinc-Finger protein C2/H2-type) ha sido aislado y caracterizado. La proteína codificada por este gen posee un alto grado de similitud con la proteína ZPT3-3 aislada de petunia, la cual es sintetizada en el tejido de transmisión del pistilo y ha sido asociada a la fertilización floral. Otro de estos genes, representado por el EST VVCCGS2117F10.b, exhibió una alta tasa de represión en bayas no semilladas (91.1 veces). El gen respectivo ha sido aislado y caracterizado estructuralmente. La proteína codificada posee similitud con una proteína hipotética de *Arabidopsis thaliana*. El análisis *in silico* revela la presencia de dominios funcionales presentes en miembros de la familia de receptores quinasa. El patrón de expresión de ambos genes ha sido analizado en diferentes tejidos y estadios de desarrollo.

64. CARACTERIZACIÓN DE XILOGLUCANO ENDOTRANGLICOSILASA / HIDROLASA (XET/H) DURANTE LA MADURACIÓN DE FRUTOS DE *Fragaria chiloensis* (Characterization of xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase (XET/H) during ripening of *Fragaria chiloensis* fruits) **Opazo, M.C.¹**, Figueroa, C.¹, Pimentel, P.¹, Valenzuela, P.², Herrera, R.¹, Moya León, A.¹. Lab Fisiología Vegetal y Genética Molecular, IBVB. Universidad de Talca, Talca¹. Fundación Ciencias para la Vida, Santiago².

Los cambios que ocurren durante el proceso de maduración involucran el ablandamiento de los frutos, lo que contempla modificaciones en la composición y ensamblaje de componentes de la pared celular. En frutos de frutilla chilena (*Fragaria chiloensis*) se aprecian cambios en la fracción hemicelulósica, la cual puede ser modificada a través de las actividades enzimáticas como xiloglucano endotransglucosilasa/hidrolasa (XTHs). Isoformas de XTH han sido descritas en frutos como kiwi, pera y manzana. Se identificaron dos secuencias genéticas con homología a XTH de rosáceas a partir de una base de datos de ESTs de *F. chiloensis*. Mediante RACE se obtuvieron las secuencias de largo completo para dos isoformas de XTH de *Fragaria chiloensis*: FcXTH1 y FcXTH2. Análisis de RT-PCR muestran que FcXTH2 presenta expresión específica en fruto, en contraste a FcXTH1 que se expresa también en tejidos vegetativos. Ensayos de hibridación Northern muestran que ambas isoformas presentan patrones de expresión diferentes a lo largo de la maduración de fruto, presentando la isoforma FcXTH1 un incremento en su expresión durante el desarrollo y maduración. Mediante análisis bioinformático de las secuencias de largo completo se permitió establecer la secuencia aminocídica deducida de ambas isoformas, y realizar predicción y análisis de estructura secundaria y terciaria a través de modelamiento por homología. En conjunto estos antecedentes proveen por primera vez evidencia de la existencia de XTH en frutilla chilena. Agradecimientos: Proyecto PBCT Anillo de Ciencia y Tecnología ACT-41.



65. DETECCIÓN DE LOS NIVELES PROTEICOS Y ACTIVIDAD XILOGLUCANO ENDOTRANGLICOSILASA/ HIDROLASA (XTH) DURANTE LA MADURACIÓN DE FRUTOS DE *Fragaria chiloensis* Y *F. x ananassa* (Detection of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein level and activity during ripening of *Fragaria chiloensis* and *F. x ananassa* fruits) **Henríquez, M.J.¹**, Opazo, M.C.¹, Figueroa, C.¹, Herrera, R.¹, Moya-León, M.A.¹ Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Talca¹.

La frutilla es un fruto de muy corta vida de postcosecha *Fragaria x ananassa* es la especie de frutilla de mayor consumo en el mundo. *F. chiloensis*, la madre de *F. x ananassa*, se caracteriza por su intenso aroma, dulzor y su color blanco. Ambas presentan un rápido ablandamiento durante la maduración, lo que limita su periodo de comercialización y afecta su calidad. Es conocido el que enzimas que modifican la estructura de la pared celular contribuyen al ablandamiento del fruto. La enzima xiloglucano endotransglucosilasa/hidrolasa (XTH) participa en la modificación de xiloglucanos de pared celular en otros frutos carnosos. Previamente hemos demostrado la existencia del gen XTH en frutilla y su expresión durante la maduración del fruto. Con el objetivo de cuantificar los niveles de proteína XTH durante la maduración de frutos, se procedió a preparar extractos proteicos a partir de frutos, para posteriormente realizar la detección de XTH mediante la utilización de un anticuerpo policlonal utilizando un ensayo inmunoenzimático (ELISA-directo). Para la cuantificación de la actividad enzimática transglucosilasa (XET) e hidrolasa (XEH) se utilizó un ensayo colorimétrico basado en el establecimiento del complejo yoduro-xiloglucano. Mediante ELISA se ha conseguido demostrar un máximo contenido de proteína en el estadio de transición, etapa inicial de la maduración de frutilla. La acción coordinada de ésta y otras enzimas promueve el desensamblaje de la pared celular que tiene lugar durante el ablandamiento de frutilla. Agradecimientos: Proyecto PBCT Anillo de Ciencia y Tecnología ACT-41.

67. BIOSÍNTESIS DE FITOHORMONAS DITERPÉNICAS EN HÍBRIDOS ENTRE *Fusarium fujikuroi* Y *Fusarium proliferatum* (Diterpene hormone biosynthesis in hybrids of *F. fujikuroi* and *F. proliferatum*) **Corrotea, Y.¹**, Acuña, V.¹, Troncoso, C.¹, Rojas, M.C.¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

Fusarium fujikuroi y *Fusarium proliferatum* son dos especies de hongos pertenecientes al complejo taxonómico *Gibberella fujikuroi*, muy cercanamente relacionadas desde el punto de vista filogenético. *F. fujikuroi* es un patógeno del arroz y produce grandes cantidades de ácido giberélico (GA_3) en tanto que *F. proliferatum* es un patógeno del maíz y no produce giberelinas (GAs) a pesar de contener todos los genes de su biosíntesis. Estudios recientes de interfertilidad entre ambas especies demostraron que algunos miembros de *F. fujikuroi* y *F. proliferatum* pueden cruzarse e intercambiar material genético bajo condiciones de campo. Particularmente esto ocurre con las cepas C-1995 (*F. fujikuroi*) y D-4854 (*F. proliferatum*) con las que se desarrolló este trabajo. Se caracterizó la biosíntesis de GAs en ambas cepas así como en la progenie de cruces CxD mediante la identificación de las GAs presentes en el medio de cultivo (por GC-MS) y la determinación de la actividad de las distintas oxidasas de GAs. La cepa C-1995 sintetiza GA_1 como producto final en vez de GA_3 , lo que sugiere un bloqueo a nivel de la desaturasa en tanto que la cepa D-4854 no sintetiza GAs pero presenta algunas enzimas activas, entre ellas la desaturasa. Mediante la administración de ^{14}C -GAs e identificación de los productos de metabolización, se investigó qué intermediarios sintetiza esta cepa de *F. proliferatum*. En la progenie se investigó la capacidad biosintética de GAs así como la actividad de las distintas oxidasas. Financiado por FONDECYT 1061127.

66. CARACTERIZACIÓN DE LA INTERACCIÓN ENTRE CITOQUININAS Y NITRATO EN RAICES DE *Arabidopsis thaliana*.

(Characterization of the cytokinin:nitrate interaction in *Arabidopsis thaliana* roots) **De La Cruz, J.¹**, Naulin, P.¹, Gutiérrez, R.¹ Departamento Genética Molecular y Microbiología, P. Universidad Católica de Chile¹.

Las plantas han evolucionado mecanismos de respuesta a cambios ambientales, como por ejemplo la disponibilidad de nutrientes. El nitrógeno es un macronutriente esencial para las plantas. En suelos agrícolas está disponible principalmente como nitrato. Se ha demostrado que además de una función nutricional, nitrato es capaz de regular la expresión de cientos de genes. Esta regulación debe ser integrada junto a otras señales endógenas para coordinar el desarrollo de la planta. Estudios han propuesto que la interacción entre citoquininas y nitrato sería importante para este desarrollo. En este estudio realizamos análisis de mutantes en la biosíntesis de las citoquininas para evaluar el papel de estas hormonas en la respuesta a nitrato. Análisis de plantas mutantes en el gen que codifica para la enzima limitante en la biosíntesis de citoquininas isopentenil transferasa (mutante simple *ipt5* y mutante doble *ipt3/ipt5*) bajo diferentes condiciones nutricionales de carbono y nitrógeno, indican que las citoquininas son necesarias para el crecimiento de las raíces en respuesta a nitrato. Por otro lado, resuplementación de las mutantes con citoquininas exógenas revierte el fenotipo observado de forma dosis dependiente. Sugiriéndose así que niveles internos adecuados de las citoquininas son necesarios para el crecimiento de la raíz en nitrato. Estudios genómicos se utilizarán para evaluar la participación de nitrato y citoquininas en el desarrollo de la raíz, de manera de explicar el fenotipo observado en estas mutantes. Agradecimientos: FONDECYT (1060457), Núcleo Milenio P06-009-F, ICGEB CRPCHI0501, NIH-FIRCA 1R03PW007823-01A1 F614-01.

68. DISTRIBUCIÓN DE LA CAPACIDAD DE BIOSINTETIZAR GIBBERELINAS EN HONGOS DEL COMPLEJO TAXONÓMICO *Gibberella fujikuroi* (Distribution of gibberellin biosynthesis activity in the *Gibberella fujikuroi* taxonomic complex) **Troncoso, C.¹**, González, X.¹, Corrotea, Y.¹, Rojas, M.C.¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

Gibberella fujikuroi es un complejo taxonómico formado por 11 especies biológicas pertenecientes al género *Fusarium* y aisladas de diferentes plantas. Sintetizan diversos metabolitos secundarios como micotoxinas y giberelinas (GAs), un grupo de fitohormonas diterpénicas. La capacidad de sintetizar GAs varía entre las distintas especies. Hasta ahora, sólo *F. fujikuroi* y *F. konzum* (una cepa) se ha encontrado que producen GAs. Se investigó la biosíntesis de GAs en varias cepas de *F. konzum* y en otras dos especies del complejo: *F. sacchari* e híbridos entre *F. fujikuroi* y *F. proliferatum*. Las últimas dos especies están muy cercanamente relacionadas desde el punto de vista filogenético. Se encontraron en *F. sacchari* y *F. konzum* cepas productoras y no productoras de GAs. En *F. sacchari*, el principal producto es GA_3 . Las cepas no productoras sintetizan ácidos fujenoicos, productos laterales de la biosíntesis de GAs y trazas de GA_1 . En *F. konzum*, el producto final es GA_1 . Mediante la administración de precursores marcados con ^{14}C a los cultivos se investigó la actividad de oxidasas de GAs. Tanto en *F. konzum* como en *F. sacchari* participan intermediarios 3 β -hidroxilados. Las cepas productoras presentan una reducida actividad de oxidasas. Las cepas no productoras de *F. sacchari* presentan bloqueos en etapas tempranas en tanto que *F. konzum* no presenta actividad de oxidasas. En los híbridos entre *F. fujikuroi* y *F. proliferatum* se encontró actividad parcial de las enzimas de la biosíntesis de GAs. Financiado por FONDECYT 1061127.

69. FUNCIONALIDAD DE MONOOXIGENASAS DE GIBERELINAS EN EL HONGO *Fusarium sacchari* (Functionality of the gibberellin monoxygenases from *Fusarium sacchari*) **González, X.¹**, Acuña, V.¹, Rojas, M.C.¹ Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile¹.

Entre los hongos del género *Fusarium* la biosíntesis de giberelinas (GAs) se ha descrito principalmente para *Fusarium fujikuroi*, el agente causante de la enfermedad de superelongación en el arroz, que sintetiza altos niveles de ácido giberélico (GA₃). En este hongo se ha caracterizado la biosíntesis de GAs tanto a nivel de las reacciones químicas, las enzimas y los genes. Una especie cercanamente relacionada a *F. fujikuroi* es el hongo *Fusarium sacchari*, microorganismo aislado desde la caña de azúcar. Esta especie contiene todos los genes de la biosíntesis de GAs, sin embargo las cepas hasta ahora analizadas no producen GAs y no se han estudiado las razones de esta carencia a nivel molecular. En este trabajo se describen y caracterizan dos cepas de *F. sacchari* aisladas desde la caña de azúcar y se caracterizó en ellas la biosíntesis de GAs. Las giberelinas se aislaron desde el filtrado del cultivo y se identificaron por GC-MS, siendo el principal producto el ácido giberélico junto a concentraciones menores de GA₁. Los niveles de GA₃ se cuantificaron mediante HPLC a los 10 días de cultivo. Mediante la administración de precursores de GAs marcados con ¹⁴C, se identificó la secuencia de reacciones que participa en la síntesis de GA₃ y GA₁, identificándose los intermediarios y productos finales de la vía. Se comparó la actividad de las distintas monooxigenasas de GAs en ambas cepas. Financiado por FONDECYT 1061127.

71. LA ENZIMA BtuE PARTICIPA EN LA DEFENSA DE *Escherichia coli* A DAÑO OXIDATIVO PROVOCADO POR TELURITO DE POTASIO. (*Escherichia coli* BtuE enzyme participates in the defence to potassium tellurite-mediated oxidative damage.) **Arenas, F.¹**, Imlay, J.², Vásquez, C.¹ Laboratorio Microbiología Molecular, USACH¹. Department of Microbiology, University of Illinois, USA²

Se ha demostrado que células de *Escherichia coli* expuestas a telurito de potasio (K₂TeO₃) exhiben un considerable aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) a nivel citoplasmático, en especial radical superóxido (O₂⁻). En nuestro laboratorio hemos observado que la proteína BtuE de esta bacteria es una enzima involucrada en defensa contra el estrés generado por K₂TeO₃ y por otros elicitores de ROS. Se analizó el efecto del oxígeno en la toxicidad de K₂TeO₃ en cepas silvestres, mutantes en *btuE* (Δ *btuE*) y en catalasas/peroxidasas (Hpx). Cepas crecidas en condiciones anaeróbicas presentaron una mayor resistencia al tóxico en relación a células crecidas en presencia de oxígeno, indicando que la toxicidad de esta sal -mediada por ROS- se incrementa en la condición aeróbica. Mediante transducción mediada por fago P1 se generó una cepa mutante Hpx Δ *btuE*, permitiendo analizar el efecto de *btuE* frente a K₂TeO₃ y H₂O₂. La cepa silvestre y Δ *btuE* no difieren mayormente en la resistencia frente a estos tóxicos, pero la sensibilidad aumentó en un background Hpx, indicando que *btuE* confiere resistencia a K₂TeO₃ y H₂O₂. Este fenómeno no se observa en condiciones anaeróbicas, sugiriendo que *btuE* estaría probablemente involucrada en defensa contra daño oxidativo. Análisis in vivo del consumo de H₂O₂ sugiere que BtuE no participa directamente en la descomposición de éste. Por otra parte, la sobreexpresión de *btuE* en células mutantes en *gshA* protege frente a H₂O₂, sugiriendo que GSH no es un sustrato necesario para la actividad de esta enzima. Financiamiento: Fondecyt 1090097. Mecesp-UCH407. CONICY.

70. ESTADO REDOX EN CEPAS MUTANTES PARA LOS GENES *zwf* Y *gnd* DE *Escherichia coli* (Redox-state in *zwf* and *gnd* gene-knockout strains of *Escherichia coli*) **Matsuda, L.¹**, Hidalgo, Y.¹, Olavarría, K.¹, Cabrera, R.¹. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

La vía de las pentosas es considerada una de las principales fuentes de producción de NADPH, el cual es requerido generalmente para reacciones de biosíntesis. En *Escherichia coli* las enzimas glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGDH), de la vía de las pentosas, son codificadas por los genes *zwf* y *gnd*, respectivamente. En este trabajo se evalúa el impacto fisiológico de las deleciones de estos genes (Δ *zwf* y Δ *gnd*) en las concentraciones intracelulares de NAD(P)/NAD(P)(H) de *Escherichia coli* en distintas fases del crecimiento en medio mínimo suplementado con glucosa como única fuente de carbono, comparándola con la cepa silvestre. La deleción de los genes se constató mediante PCR usando partidores específicos. La actividad específica de G6PDH en las cepas Δ *zwf*, Δ *gnd* y la silvestre fue comparada a partir de extractos en fase exponencial. Proyecto FONDECYT 11080290.

72. INFLUENCIA DEL TELURITO DE POTASIO EN EL NIVEL DE PIRUVATO Y -CETOGLUTARATO EN *Escherichia coli* (Influence of potassium tellurite on pyruvate and-ketoglutarate levels in *Escherichia coli*) **Diaz, W.¹**, Reinoso, C.¹, Molina, R.¹, Castro, M.¹, Vásquez, C.¹ Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹.

El telurio (Te) es un metaloide que pertenece al grupo VIA de la Tabla Periodica. En su estado elemental el Te no presenta toxicidad; sin embargo, sus oxianiones teluratos [TeO₄²⁻] y teluritos [TeO₃²⁻] son altamente tóxicos para las bacterias. Recientemente se demostró que células de *Escherichia coli* expuestas a K₂TeO₃ experimentan un aumento de ROS intracelular estableciéndose que, al menos en parte, el efecto tóxico del TeO₃²⁻ involucra el establecimiento de un estrés de tipo oxidativo. Estudios realizados en nuestro laboratorio demostraron que el componente E3 del complejo piruvato deshidrogenasa (PDH) de *E. coli* cataliza la reducción de K₂TeO₃ *in vitro*. Extractos proteicos obtenidos de células de *E. coli* y *Aeromonas caviae* ST expuestas a concentraciones subletales de telurito mostraron una disminución de la actividad PDH. Esta disminución se relacionaría con la presencia de la actividad enzimática secundaria telurito reductasa de E3. Debido a que E3 además forma parte del complejo α -cetoglutarato deshidrogenasa (KGDH) este complejo multienzimático podría ser considerado como un nuevo blanco intracelular de telurito con la concomitante disminución de su actividad. En este trabajo se presentan resultados sobre la concentración intracelular de los intermediarios metabólicos piruvato y α -cetoglutarato, determinados por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en condiciones de estrés generado por K₂TeO₃. Asimismo se muestra la disminución en la regulación relativa del gen *lpd* (dihidrolipoamida deshidrogenasa) determinado por PCR en tiempo real. Financiado por Fondecyt 1090097, Dicyt-USACH.



73. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA MICROCINA N (Action mechanism of microcin N) **Saavedra, J.M.¹**, Ferrer, A.¹, Navarro, M.¹, Tello, M.², Corsini, G.¹ Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales, Santiago, Chile¹. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile². La microcina N es una bacteriocina de 7274 Da producida por la cepa *E. coli* 2424. Los determinantes genéticos para su síntesis se encuentran en un fragmento de 5,25 Kb, que posee 5 genes: el gen *mcnR* que codifica para una proteína regulador de la familia de las H-NS, los genes *mcnI* y *mcnN* que codifican para la proteína de autoinmunidad y la microcina N y los genes *mcnA* y *mcnB* que codifican para un exportador de la familia ABC. Originalmente, esta microcina se denominó microcina 24, pero diferencias en la secuencia publicada en el Genbank demandó su corrección, renombrándola como **microcina N** (Genbank FJ895580). Mediante ensayos de actividad -galactosidasa en *E. coli* DH5 y *E. coli* HB101, recuento de células viables y microscopía de fluorescencia se determinó que la microcina N presenta actividad bactericida sobre la célula blanco, permeabilizando la membrana citoplasmática. Analizando la sensibilidad de las cepas de *E. coli* C600, JM110 y P8 a la microcina N, se determinó que el receptor para esta microcina es la proteína FhuA (receptor del ferricromo hidroxamato). Generando una mutante en los genes *fhuCDB* por el método de Wanner, se determinó que estos elementos participan en el mecanismo de acción y empleando mutantes individuales para *fhuCDB* se determinó que la microcina N, al ingresar al periplasma por medio de FhuA, emplea las proteínas FhuD y FhuB para permeabilizar la membrana interna. Financiamiento: VRA-UDP CG13.03.25.015.

75. EL INICIO DE LA TRADUCCIÓN MEDIADO POR EL IRES DE HIV PRESENTA BAJA SENSIBILIDAD A EDEINA (Translation initiation mediated by HIV IRES shows low sensitivity to edeine) **Castillo, E.¹**, Rivero-Jiménez M.¹, Ramdohr, P.¹, López-Lastra, M.¹ Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas (CIM), Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

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 cap y es poliadenilado. Además contiene en su región 5' UTR un sitio interno de entrada a ribosoma (IRES) que permite iniciar la traducción de manera cap-independiente. El mecanismo molecular mediante el cual el IRES viral es regulado, se desconoce. Los IRES virales pueden reclutar el complejo de iniciación río arriba del codón de inicio, o bien sobre éste. En este estudio, utilizamos la droga edeina para establecer cómo el IRES de HIV-1 recluta el complejo de iniciación. Edeina es un antibiótico capaz de interferir con la capacidad del complejo 48S (subunidad 40S ribosomal junto con el complejo ternario eIF2/GTP/Met-tRNAi), que migra sobre el mRNA en dirección 5' a 3' (scanning), de reconocer el codón de inicio de la traducción. Los resultados obtenidos muestran que la traducción mediada por el IRES de HIV no es susceptible a la presencia de edeina, sugiriendo que el complejo de iniciación y por ende la subunidad 40S ribosomal, se recluta directamente sobre el codón de inicio. Fondecyt 1090318. MLL pertenece al núcleo milenio NMII.

74. PURIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD DEL PEPTIDO ANTIMICROBIANO GICINA A (Purification, biochemical characterization and cytotoxicity of antimicrobial peptide Gicin A) **Ferrer, A.¹**, Navarro, M.¹, Sabanegh, S.¹, Saavedra, J.M.¹, Tello, M.², Corsini, G.¹ Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales¹. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile².

En nuestro laboratorio hemos identificado un nuevo compuesto bioactivo con propiedades antibacteriana, de tipo bacteriocina, producido por la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* O400, al que hemos denominado Gicina A. Esta bacteriocina posee actividad inhibitoria de crecimiento, sólo sobre bacterias Gram positivas. Debido a que no existen informes en la literatura de bacteriocinas producidas por bacterias Gram negativas que inhiban el crecimiento sólo de bacterias Gram positivas, y las posibles aplicaciones biomédicas, el estudio del mecanismo de acción, las propiedades bioquímicas y toxicidad de la Gicina A constituye un valioso aporte en la búsqueda de nuevos antimicrobianos. Mediante el uso de columnas hidrofóbicas C18 hemos purificado la Gicina A, utilizando como fase móvil metanol. Empleando geles de poliacrilamida-SDS y activogramas determinamos que la Gicina A posee una masa molecular aproximada de 8000 Da y mediante HPLC en fase reversa y espectrometría de masa determinamos que esta bacteriocina posee una masa molecular de 7924 Da. Mediante ensayos de actividad hemos observado que Gicina A presenta estabilidad a pH superiores a 7. Mediante ensayos de alteración en la cinética de crecimiento de una cepa sensible hemos determinado que la Gicina A tendría un efecto bactericida sobre la bacteria blanco. Asimismo hemos determinado mediante microscopía de fluorescencia que la Gicina A actuaría permeabilizando la membrana celular de la célula blanco. Ensayos de citotoxicidad realizados sobre algunas líneas celulares eucariotes indican que esta bacteriocina presenta una baja citotoxicidad *in vitro*. Financiamiento: VRA-UDP CG13.03.25.015.

76. EL mRNA DE HIV-1 TRADUCE DE MANERA CAP E IRES DEPENDIENTE (HIV-1 mRNA translate IRES and Cap dual activity) **Rivero-Jiménez, M.¹**, Valiente-Echeverría, F.¹, López-Lastra, M.¹. Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

En eucariotes la iniciación de la síntesis de proteínas puede llevarse a cabo por dos mecanismos; mediante la vía canónica o cap-dependiente o bien a través de la vía cap-independiente, la cual es mediada por un sitio de entrada interna de ribosomas (IRES). El mRNA completo de HIV-1 posee estructura 5' cap, y un IRES en la región 5' no traducida (UTR). La actividad mínima de IRES se observa en la región que comprende desde el nucleótido 104 al 336. La existencia de una estructura 5' cap y un IRES en la misma unidad transcripcional sugiere que ambas funciones pueden ser requeridas durante la replicación de HIV-1. Es por tanto posible proponer que el mRNA de HIV-1 puede iniciar la síntesis de proteínas ya sea de manera cap-dependiente o bien de manera cap-independiente. Con el fin de establecer si el mRNA de HIV-1 posee esta capacidad dual, diseñamos un vector que genera un mRNA donde la región 5'UTR de HIV-1 dirige la síntesis de la luciferasa de firefly. Alternativamente, se diseñó un vector que genera un mRNA el cual exhibe un codón de inicio en contexto óptimo "Kozak" anterior a la zona mínima donde existe actividad IRES de HIV-1. Mediante ensayos de traducción *in vitro* determinamos, que en el contexto del mRNA de HIV-1, la síntesis de proteínas cap-dependiente e IRES dependiente, ocurre de manera simultánea cuando las condiciones experimentales favorecen la traducción cap dependiente. Fondecyt 1090318; Núcleo Milenio NMII.

77. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD IRES EN VARIANTES NATURALES DE HIV-1 (Translational analysis of natural variants of the HIV-1 internal ribosome entry site) **Vallejos, M.**¹, Valiente-Echeverría, F.¹, López-Lastra, M.¹ Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, (CIM) Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

La región 5' no traducida (5'UTR) del mRNA completo del Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (HIV-1), miembro de la familia *Retroviridae* y agente etiológico del SIDA, presenta un sitio interno de entrada del ribosoma (IRES). El IRES de HIV-1 comanda la síntesis de las proteínas estructurales Gag y Gag/Pol. Con el fin de establecer los mecanismos moleculares que gobiernan el proceso de reclutamiento del la maquinaria traduccional celular al IRES viral, se aislaron variantes naturales de 5'UTR presentes en plasmas de pacientes infectados con HIV-1. La actividad traduccional de estas variantes fue analizada mediante el uso de vectores bicistrónicos, los cuales poseen dos cistrones reporteros separados por una región intercistrónica. De esta manera la traducción del primer cistrón será dependiente de la estructura cap, mientras que la traducción del segundo cistrón sólo podrá ocurrir si el segmento intercistrónico es capaz de reclutar al complejo de iniciación de manera cap-independiente. La actividad traduccional fue evaluada en ensayos *in vitro* utilizando el sistema de lisado de reticulocitos de conejo (RRL) y en ensayos *ex-vivo* en células HeLa. Es así como se han evidenciado el aislamiento de mutantes naturales de HIV-1 que presentan una mayor actividad IRES que la cepa viral definida como salvaje. La caracterización de estas mutantes permitirá una mejor comprensión del mecanismo utilizado por el RNA viral es la captura de la maquinaria de síntesis de proteína celular. Fondecyt 1060655, 1090318, Beca. CONICYT.

79. ANÁLISIS DE LA REGIÓN TRONCAL DE LA PROTEÍNA Gc DEL VIRUS ANDES. ¿UN NUEVO ELEMENTO EN EL PROCESO DE FUSIÓN DE MEMBRANAS VIRUS-CÉLULA? (Analysis of the Andes virus Gc stem region. A novel element in the virus:cell membrane fusion process?) **Muñoz-León, I.**¹, Pouchucq, L.², Monasterio, O.², Tischler, N.D.^{1,3} Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio MIFAB, Santiago, Chile¹. Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Universidad de Chile, Santiago, Chile². Universidad San Sebastián, Santiago, Chile³.

Los virus Hanta son virus envueltos con un genoma tripartito de ssRNA(-) capaces de infectar humanos. En Chile, se ha descrito la presencia de la especie *virus Andes* (ANDV). En su membrana se encuentran ancladas dos glicoproteínas: Gn y Gc. La proteína Gc fusiona la membrana viral con la membrana celular y comparte características con proteínas de fusión clase II. El gran ectodominio de Gc es comunicado con el segmento de transmembrana a través de la región troncal. En este trabajo se ha caracterizado la región troncal de ANDV Gc con respecto a su estructura y capacidad de interactuar con membranas. Usando herramientas *in silico* se encontró que esta región puede estar formada por dos hélices (denominadas H1 y H2) conectadas, lo cual se corroboró midiendo el espectro de dicroísmo circular a péptidos análogos de esta región. Se predijo que la región H2 corresponde a una hélice anfipática que se localiza probablemente en la interfase de membrana/agua. En ensayos *in vitro* de péptidos análogos con liposomas se demostró que tanto la región H1, H2 como la región troncal completa de ANDV Gc fueron capaces de interactuar con membranas modelos. Proponemos que la región troncal de ANDV Gc y de otras proteínas de fusión clase II induce estrés elástico en la membrana viral, favoreciendo así el proceso de fusión entre membranas. Financiamiento: Proyectos FONDECYT 11060231, CONICYT PFB-16, Beca CONICYT para Estudios de Magíster en Chile 2009.

78. DOMINIO III DE LA GLICOPROTEÍNA Gc DEL VIRUS ANDES: UN POTENCIAL INHIBIDOR DEL PROCESO DE FUSIÓN VIRAL (Gc domain III of Andes virus: A potential inhibitor of the viral fusion process)

Barriga, G.¹, Vidal, S.¹, Valenzuela, P.D.¹, Tischler, N.D.^{1,2}. Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio MIFAB, Santiago, Chile¹. Universidad San Sebastián, Santiago, Chile².

El virus Andes (ANDV) del genero Hantavirus es el agente causante del síndrome cardiopulmonar en Chile. Para infectar células, ANDV fusiona su membrana de envoltura con la membrana de la célula hospedera. Este proceso es mediado por proteínas de fusión. En nuestro laboratorio se determinó previamente que la proteína Gc de ANDV es la proteína fusogénica viral y que ésta comparte características con proteínas de fusión clase II. Esta clase de proteínas de fusión está compuesta por 3 dominios globulares formados mayoritariamente por hojas beta. Al activarse, estas proteínas sufren múltiples cambios conformacionales, uno de los cuales consiste en el desplazamiento del dominio III hacia el péptido de fusión localizado en el extremo opuesto de la molécula (dominio II), induciendo así una estructura de horquilla. Previamente se demostró con diferentes virus que poseen proteínas de fusión clase II que el dominio III y la región troncal adicionados de forma exógena durante la infección viral, inhiben el proceso de fusión de membranas. Para caracterizar e inhibir el mecanismo de fusión de ANDV, en este trabajo se sintetizó en forma soluble el dominio III de la proteína Gc con y sin la región troncal. La actividad inhibitoria de los dominios se estudió en ensayos de fusión entre células y ensayos de inhibición de entrada viral a la célula, utilizando vectores lentivirales pseudotificados con las proteínas Gn y Gc de la envoltura de ANDV. Financiamiento: Proyectos FONDECYT 11060231 y CONICYT PFB-16.

80. CAMBIOS EN LA ESTABILIDAD DE MICROTÚBULOS EN NEURITAS DE CÉLULAS PC12 CO-CULTIVADAS CON LINFOCITOS INFECTADOS CON EL VIRUS HTLV-1 (Changes in microtubule stability in neurites of PC12 cells co-cultured with lymphocytes infected with HTLV-I virus)

Pando, M.E.¹, Maldonado, H.¹, Kettlun, A.M.¹, Ramirez, E.^{2,3}, Colados, L.¹, Cartier, L.⁴, Valenzuela, M.A.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Celular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹. Departamento de Virología ISP². Programa de Virología ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile³. Departamento de Ciencias Neurológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile⁴.

La Paraparesia Espástica Tropical es una axonopatía que afecta las neuronas motoras del haz corticoespinal. La enfermedad se atribuye a la proteína viral tax secretada desde linfocitos Treg infectados con HTLV-1. La degeneración axonal en pacientes con paraparesia comienza con el desensamblaje de los microtúbulos desde la región distal, atribuyéndose a fallas en el transporte antégrado axonal. Como modelo *in vitro* de degeneración axonal atribuida al HTLV-I se utilizaron células PC12 diferenciadas co-cultivadas a través de membrana semipermeable con linfocitos infectados con HTLV-1 (células MT2). Como control se usaron linfocitos no infectados (células K-562). El ensayo se realizó hasta los 60 min, lisando posteriormente los cultivos de PC12. En este modelo se estudió el efecto de los productos secretados por las células MT2 sobre las modificaciones postraduccionales de las tubulinas (-tubulina tirosinada, -destirosinada y total) componentes de los microtúbulos y que son indicadoras de la estabilidad neurítica. El cambio en las modificaciones postraduccionales en las tubulinas se midió por western blot de los lisados de PC12 control, PC12/MT2 y PC12/K-562. Para evaluar la presencia de tax en el medio del co-cultivo por western blot se concentraron previamente las proteínas con TCA. En los co-cultivos PC12/MT2 se observó un aumento de la -tubulina tirosinada respecto a la tubulina total, lo que daría cuenta de que los productos virales modifican extracelularmente la estabilidad de los microtúbulos produciendo una forma más inestable que podría explicar la retracción neurítica producida. Financiamiento Fondecyt 108 0396.



81. EFECTO DE PRODUCTOS VIRALES SECRETADOS POR LINFOCITOS INFECTADOS CON VIRUS HTLV-1 SOBRE PROTEÍNA CRMP-2 Y SUS FORMAS FOSFORILADAS EN CULTIVOS NEURONALES. (Effect of viral products secreted from HTLV-1 infected lymphocytes on CRMP2 protein and its phosphorylated forms in neuronal cultures) **Reyes, J.**¹, Quintremil, S.¹, Kettlun, A.M.¹, Maldonado, H.¹, Pando, M.E.¹, Collados, L.¹, Ramírez, E.^{2,3}, Cartier, L.⁴, Valenzuela, M.A.¹ Depto Bioquímica y Biología Molecular. Fac Cs Químicas y Farmacéuticas, Universidad Chile¹. ICBM, Programa de Virología, Fac Medicina, Universidad Chile². Depto. Virología ISP³. Depto Cs Neurológicas, Fac Medicina, Universidad Chile⁴.

La paraparesia espástica es una enfermedad del SNC asociada al retrovirus HTLV-1, produce una degeneración axonal (axonopatía central) en forma lenta y progresiva, asociada a la acción extracelular de proteínas virales especialmente la proteína Tax la cual tendría algún receptor de membrana que internaliza las señales induciendo alteraciones en el transporte axonal. La proteína citosólica CRMP-2 aumenta la elongación de los conos axonales y se expresa en altos niveles en sistemas nerviosos en desarrollo. Su regulación se basa en la fosforilación/desfosforilación de residuos de la zona C-terminal, en su estado fosforilado se inactiva lo que conlleva a una retracción neurítica. La fosforilación de CRMP-2 ocurre vía Rho quinasa en Thr555, y por Cdk5 en Ser522. La calpaina inactiva la CRMP-2 cortándola en la región C terminal. Se han iniciado estudios en células SH-SY5Y diferenciadas como modelo de la axonopatía observada en paraparesia tratándolas con medios de cultivo de células MT2 (línea celular linfocitaria que posee el provirus inserto y secreta Tax), lo que produce retracción neurítica. Como control se utiliza medio de cultivo de células K562. Se han iniciado los estudios determinando en lisado celular la proteína CRMP2 total y sus formas fosforiladas después del tratamiento por 1 h mediante western blot. En estos western blot se observa proteína degradada, por ello postulamos que tanto la fosforilación como la proteólisis de la proteína por activación de calpaina por Ca²⁺ podrían estar implicadas en esta degeneración neurítica. Financiamiento: Fondecyt 108 0396.

83. DETECCIÓN DE ECTODOMINIOS DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR EN CÁNCER DE PRÓSTATA (Cell adhesion molecules ectodomain detection in prostate cancer) **Muñoz, V.**¹, Sanchez, C.¹, Huidobro, C.², Acevedo, C.², Cabezas, J.², Castellon, E.¹, Contreras, H.¹ Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹. Servicio de Urología, Hospital Clínico Universidad de Chile².

Introducción: Moléculas de adhesión como E-cadherina, Sindecano -1 y -2 son fundamentales en el control del crecimiento y organización tisular. La liberación de su ectodominio puede facilitar la tumorigénesis y ser un evento temprano en la transformación maligna. Objetivo: Determinar si existe variación de la expresión y liberación al medio del ectodominio de E-cadherina, Sindecano-1 y -2 en líneas celulares y cultivos primarios de cáncer de próstata. Metodología: Cultivos de líneas celulares prostáticas de distinto grado de malignidad (PC3, Du145, LnCaP) y cultivos primarios prostáticos fueron incubados con medio DMEM-F12 sin suero durante 24 horas para luego ser recolectados, concentrados y analizados por Western Blot utilizando anticuerpos específicos contra los ectodominios de E-cadherina, Sindecano-1 y -2. Además, las líneas celulares y los cultivos primarios fueron analizados por inmunofluorescencia para establecer la relación ectodominios libres/ectodominio ligado a membrana. Resultados: Existe una variación de la relación libre/ligado de acuerdo al grado de malignidad, tanto en líneas celulares como en cultivos primarios. También se observó una mayor intensidad de los ectodominios de E-cadherina, Sindecano-1 y -2 en las líneas celulares en comparación con los cultivos primarios. Conclusiones: La relación entre expresión de las diferentes proteínas estudiadas y el grado de malignidad puede ser utilizada para diferenciar la agresividad de células neoplásicas y ser la base de una proyección clínica, utilizando los sueros de pacientes, tanto para el pronóstico y diagnóstico temprano de cáncer de próstata. Financiamiento Parcial Fondecyt 11060500.

82. ESTUDIO TRADUCCIONAL DE MUTANTES CONFORMACIONALES DEL 5'UTR DE HIV-1 (Translational Study of Conformational Mutants of HIV-1 5'UTR) **Letelier, A.**¹, Lopez, M.¹ Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. El genoma del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (HIV-1), miembro de la familia *Retroviridae*, está conformado por RNA simple hebra de polaridad positiva. Su transcrito se caracteriza por poseer en su extremo 5' una estructura cap y en su región 3' una cola poli(A). Además, presenta en su región 5'UTR o líder un sitio interno de entrada a ribosomas (IRES). La región líder posee diversos elementos estructurales que participan en diferentes etapas de la replicación viral. Diversos estudios han definido que la región líder puede al menos adoptar dos conformómeros mutuamente excluyentes denominados LDI ("long distance interaction") y BMH ("branched multiple hairpin"). El presente estudio busca establecer la participación de los distintos conformómeros de la región 5'UTR de HIV-1 en el mecanismo de traducción IRES dependiente. Con este fin se construyeron diferentes mutantes del 5'UTR de HIV-1, en los cuales se favorece ya sea la conformación BMH o la LDI. La actividad traduccional de cada una de estas mutantes es analizada mediante traducción *in vitro* en lisado de reticulocitos de conejo y traducción en células HeLa. Del presente trabajo se desprende que el cambio conformacional del 5'UTR de HIV-1 afecta su actividad traduccional IRES dependiente. Fondecyt Proyecto 1090318. MLL pertenece al núcleo milenio NMII.

84. EFECTO DE FARMACOPERONA IN3 EN LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE GnRH EN CÁNCER PROSTÁTICO (Effect of pharmacoperone IN3 in GnRH receptor expression in prostatic cancer) **Sanchez, C.**¹, Contreras, H.¹, Huidobro, C.², Acevedo, C.², Cabezas, J.², Castellon, E.¹ Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹. Servicio de Urología, Hospital Clínico Universidad de Chile².

Introducción: La expresión del receptor de GnRH (GnRHR) en hipófisis está regulada por su plegamiento, lo que determina que cerca de un 30% del receptor sintetizado se localice en la membrana plasmática, lo que es incrementado con la farmacoperona IN3. GnRHR también se expresa en el cáncer prostático (CAP) donde los análogos de GnRH son capaces de inducir apoptosis. Objetivos: Caracterizar los niveles y patrones de expresión del GnRHR en CAP y el efecto de la farmacoperona IN3. Metodología: Se realizó inmunohistoquímica para GnRHR en muestras de biopsias de pacientes con hiperplasia prostática benigna (HPB) y CAP. Además, cultivos primarios y de líneas celulares de CAP (LnCaP y PC3) fueron tratados con IN3, evaluándose el cambio de la expresión intracelular de GnRHR mediante inmunofluorescencia. Resultados: No hay diferencias entre los niveles de expresión de GnRHR entre CAP y HPB, pero en CAP la distribución es principalmente intracelular, mientras que en HPB es apical y de membrana. El tratamiento con IN3 incrementa la expresión de GnRHR en vesículas de secreción y disminuye la localización perinuclear. Conclusión: La expresión del GnRHR en CAP estaría regulada entre otros, por mecanismos postraduccionales relacionados con su plegamiento, ya que el tratamiento con IN3 logró aumentar su tráfico hacia la membrana plasmática. El uso de IN3 como terapia en el CAP podría incrementar el efecto de terapias sistémicas y locales con análogos de GnRH. Financiamiento: Proyecto Fondecyt 3090016.



85. ANÁLISIS DEL GEN PALB2 EN 57 PACIENTES CHILENAS CON CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO (Screening of the *PALB2* gene in 57 Chilean patients with hereditary breast cancer) **Gajardo, P.¹**, Sanchez, A.¹, Tapia, T.¹, Herrera, C.¹, Benavides, F.¹, Alvarez, M.², Camus, M.², Carvallo, P.¹ Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile².

PALB2 es indispensable para la función y localización de *BRCA2*, junto al cual participa en la reparación del DNA por recombinación homóloga. Se ha descrito que mujeres portadoras de mutaciones en este gen presentan mayor susceptibilidad a desarrollar cáncer de mama que las no portadoras. Por esta razón, analizamos mediante las técnicas de Conformómeros de Simple Hebra (SSCP) y secuenciación de DNA, la presencia de alteraciones en el gen *PALB2* en 57 familias chilenas con cáncer de mama que no presentan mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Encontramos 11 alteraciones nucleotídicas: 8 exónicas, 2 intrónicas, y 1 en la región 5'UTR del gen. De estas alteraciones, dos son descritas por primera vez en nuestra población: la variante intrónica c.3351-66delT y la variante exónica p.G752G. Para evaluar el efecto funcional y estructural de las variantes aminoacídicas encontradas se utilizó el programa computacional PolyPhen, el cual mostró que la variante p.G998E puede alterar la estructura y/o función de la proteína. Para determinar un posible efecto en el splicing, se utilizó el programa computacional ESEfinder y se encontró que dos variantes: c.1-47G>A y p.T1100T afectan la unión de proteínas que participan en el splicing. Las variantes c.1-47G>A, p.G998E y p.Q559R fueron además, analizadas en la población control, sin encontrar una asociación estadística significativa a cáncer de mama hereditario. Este es el primer estudio de búsqueda de mutaciones en el gen *PALB2* en familias con cáncer de mama, realizado en Latinoamérica. FONDECYT 10805 95.

87. REGULACIÓN POST TRADUCCIONAL DEL TRANSPORTADOR DE NUCLEÓSIDOS CONCENTRATIVO hCNT3 POR ÁCIDO TRANS RETINOICO (Post-translational regulation of the concentrative nucleoside transporter hCNT3 by retinoic acid) **Fernández-Calotti, P.¹**, Pastor-Anglada, M.¹ Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Biologia, Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB), CIBER EHD, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain¹. Patrocinante: Sobrevia, L.

La fludarabina (Flu) es un análogo de nucleósido ampliamente utilizado en el tratamiento de la leucemia linfática crónica (CLL). Su acción proapoptótica es llevada a cabo una vez ha ingresado a la célula mayoritariamente a través de transportadores de nucleósidos equilibrativos (hENTs). Se sabe que Flu es un buen sustrato del transportador de nucleósidos concentrativo hCNT3, pero las células CLL carecen de esta actividad transportadora. Sin embargo, se ha reportado una correlación positiva entre poblaciones de pacientes resistentes al tratamiento con Flu y una alta tasa de hCNT3 citoplasmático sin detectarse actividad hCNT3 en la membrana plasmática. Por otro lado, se sabe que el ácido trans retinoico (ATRA) es beneficioso en el tratamiento de la leucemia promielocítica aguda (APL) y en blastos de leucemia mieloide aguda (AML), aumentando la sensibilidad de las células al análogo de nucleósido citarabina. Por lo tanto, el objetivo de nuestro estudio fue determinar el rol de ATRA en la expresión y actividad de hCNT3 en células CLL. Observamos que la incubación de células CLL con ATRA por 5-6 hs incrementa la actividad hCNT3 (3 a 5 veces) mediante un mecanismo que involucra el tráfico de hCNT3 a la membrana plasmática. Este efecto es mediado por TGF-beta1 y es dependiente de la activación de p38, ERK1/2 y RhoA.

86. EFECTOS DE DROGAS ANTICHAGÁSICAS SOBRE INFECCIÓN EX VIVO DE VELLOSIDADES CORIÓNICAS HUMANAS CON *Trypanosoma cruzi* (Antichagasic drug effects on ex-vivo infection of human chorionic villus with *Trypanosoma Cruzi*) **Orellana, M.¹**, Rojo, G.¹, Duaso, J.¹, Cabrera, G.¹, Maya, J.D.¹, Bosco, C.¹, Morello, A.¹, Galanti, N.¹, Kemmerling, U.^{1,2} ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca². La enfermedad de Chagas congénita es causada por el parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*); este alcanza al feto vía sanguínea atravesando la barrera placentaria. Nifurtimox (Nx) y Benznidazol (Bz) constituyen las principales drogas disponibles para el tratamiento de esta enfermedad, presentan importantes efectos secundarios y son teratogénicos. Se ha estudiado la capacidad infectiva de *T. cruzi* en el tejido placentario y el efecto de diversas concentraciones de Nx y Bz sobre las placentas infectadas. Se obtuvieron tripomastigotes (cepa Dm28c) a partir de células Vero infectadas y placentas de término de madres sanas. Se incubaron trozos de tejido placentario (0,5 cm³) durante 24 horas en presencia y ausencia de 106 tripomastigotes, con ó sin Bz ó Nx. La infección se comprobó mediante detección del parásito por PCR e inmunohistoquímica. El análisis histopatológico se efectuó mediante tinciones de hematoxilina-eosina, Picro rojo sirio e inmunohistoquímica (Ac anti-lactógeno placentario humano). La lipoperoxidación en las vellosidades coriónicas se determinó mediante medición de malondialdehído por HPLC. El parásito provoca daño tisular en las vellosidades coriónicas humanas. Ambas drogas inducen lipoperoxidación. Sin embargo, Nx a diferencia de Bz muestra un efecto citotóxico tisular sobre el tejido placentario. Las drogas no eliminan completamente al parásito del tejido placentario. El modelo de infección ex vivo de placenta por *T. cruzi* constituye una herramienta valiosa para determinar mecanismos de infección del parásito así como los posibles efectos de drogas sobre patógeno y placenta. Proyectos FONDECYT 1090078, 1090124 y 11080166.

88. DETERMINACIÓN DE REARREGLOS GENÓMICOS EN *BRCA1* Y *BRCA2*, EN FAMILIAS CHILENAS CON CÁNCER DE MAMA. (Determination of genomic rearrangements at the *BRCA1* and *BRCA2* loci in Chilean families with breast cancer) **Sanchez, A.¹**, Faúndez, P.¹, Alvarez, M.², Camus, M.², Carvallo, P.¹. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile².

Mutaciones puntuales y pequeñas deleciones e inserciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* son responsables de alrededor de un 20% de los casos de cáncer de mama hereditario en la población chilena. Estudios en otras poblaciones, en familias con cáncer de mama, han observado la amplificación y/o deleción de uno o más exones de estos genes, demostrando que estas alteraciones son la causa de esta enfermedad. Por este motivo decidimos determinar la presencia de este tipo de alteraciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en 76 familias chilenas con cáncer de mama, en las cuales no se detectaron mutaciones puntuales en estudios previos de nuestro laboratorio. Ya que estas alteraciones no son detectables por los métodos convencionales basados en PCR, se utilizó la técnica de MLPA (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification) para encontrar amplificaciones y/o deleciones en estos genes. Esta técnica se basa en la hibridación de sondas específicas a las regiones codificantes de estos genes, la ligación de estas sondas y la amplificación por PCR de los productos ligados. Se identificaron 2 alteraciones diferentes en el gen *BRCA1*: la amplificación del exón 10 en 1/76 familias y la amplificación de los exones 3-6 en 3/76 familias. Estas amplificaciones no han sido descritas en otras poblaciones. No se encontraron alteraciones en el gen *BRCA2* en las familias analizadas. Las amplificaciones encontradas fueron corroboradas a través de qPCR, PCR extendido y secuenciación para ubicar y delimitar las regiones amplificadas. Fondecyt 1080595.



89. UNA VARIANTE DE CATEPSINA L COLOCALIZA CON -TUBULINA DURANTE LA MITOSIS DE CÉLULAS DE CÁNCER DE COLON. (Cathepsin L variant co-localizes with α -tubulin during mitosis in colon cancer cell) **Dufey, E.¹**, Aguilar, R.¹, Arrey, V.¹, Hermosilla, V.¹, Perez, V.¹, Puchi, M.¹, Morin, V.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹. En células de cáncer de colon, existe una variante de catepsina L de localización nuclear y que en su forma activa presenta un tamaño molecular de 60 kDa. Esta variante de catepsina L segrega a ambos núcleos durante la división celular participando en la proliferación celular. Con el objeto de estudiar si esta proteasa participa en mitosis, se determinó su localización subcelular y su relación con α -tubulina en células Caco-2 en cultivo sincronizadas con nocodazol. Mediante microscopía confocal y por ensayos de coimmunoprecipitación se demostró que esta variante de catepsina L se localiza en el huso mitótico y colocaliza con α -tubulina durante la mitosis. Paralelamente se determinó la actividad proteolítica de esta proteasa en extractos obtenidos en esta etapa del ciclo celular, utilizando como sustrato Z-Phe-Arg-MCA, tanto en presencia como en ausencia del inhibidor I de catepsina L. Se demostró que esta variante de catepsina L es activa durante la mitosis y su actividad disminuye significativamente en presencia del inhibidor, generando adicionalmente a esta inhibición, un retraso en la entrada a esta fase del ciclo celular. Esto podría abrir nuevas luces respecto a la función de una variante de catepsina L en la organización del huso mitótico. (Grants: FONDECYT 11070067).

91. AMPK REGULA LA MORFOLOGÍA MITOCONDRIAL DEL CARDIOMIOCITO (AMPK regulates mitochondrial morphology in cardiomyocytes) **Verdejo, H.¹**, Parra, V.², Troncoso, R.², Bravo, R.², Lavadero, S.² Programa Doctorado en Ciencias Médicas. P.U. Católica de Chile¹. Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile². La proteína quinasa dependiente de AMP (AMPK) es una molécula clave en la regulación del metabolismo energético celular, activando vías catabólicas e inhibiendo anabólicas en respuesta a incrementos en la razón AMP/ATP. Evidencias recientes sugieren que distintas señales metabólicas podrían regular la morfología del retículo mitocondrial; sin embargo, la identidad precisa de estas señales es desconocida. En este trabajo se evaluó la participación de AMPK en la regulación de la dinámica mitocondrial en cultivos primarios de cardiomiocitos de rata. La privación de suero y glucosa por 6 o más horas se asoció a activación de AMPK y fragmentación de la red mitocondrial, evidenciada a través de cortes confocales de células tratadas con mitotracker green. La cantidad de mitocondrias por célula aumentó en condiciones de privación de nutrientes respecto al medio completo. Este aumento se reprodujo por activación directa de AMPK con 250 nM AICAR (aminoimidazol carboxamida ribonucleotido), aún en presencia de medio completo rico en nutrientes. Coincidentemente, la inhibición de la activación de AMPK con Compuesto C 100 mM recuperó la fragmentación de la red mitocondrial inducida por privación de nutrientes. La fragmentación causada por activación de AMPK mediante AICAR parece ser dependiente de la translocación de la GTPasa Drp-1 hacia la mitocondria y se asocia a cambios en el metabolismo energético celular. Se sugiere así por primera vez una posible interrelación entre el sensor metabólico AMPK y la morfología de la red mitocondrial. FONDAP 1501006, FONDECYT 1090727 y 1080436.

90. PRESENCIA DE PROTEOGLUCANOS DE HEPARANSULFATO (SINDECANO-1 Y -2) Y OTRAS MOLÉCULAS DE ADHESIÓN EN CARCINOMA PROSTÁTICO HUMANO. (Proteoglycans of heparansulphate and association with adhesion molecules in prostate cancer.) **Valdes, S.¹**, Cabezas, J.², Acevedo, C.², Huidobro, C.², Castellón, E.¹, Contreras, H.¹ Laboratorio de Andrología Celular y Molecular. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.¹. Servicio de Urología, Hospital Clínico, Universidad de Chile². Introducción: En el desarrollo de cáncer prostático (CaP) participan una serie de moléculas de adhesión celular que modifican su expresión de acuerdo al grado de progresión tumoral. Recientemente se ha reportado que los sindecanos están presentes en próstata y su expresión (sindecanos -1 y -2), así como su asociación con moléculas de adhesión celular (E-cadherina y ZO-1), podrían participar en el desarrollo tumoral. Hipótesis: sindecano-1 y -2 se expresan en CaP existiendo una relación inversa entre la expresión de sindecanos y E-cadherina y ZO-1. Objetivos: Detectar la presencia de sindecanos -1 y -2, E-cadherina y ZO-1 en CaP y analizar el efecto de la expresión ectópica de sindecano-2 en células LNCaP, sobre la expresión de E-cadherina y ZO-1. Métodos: Se determinó la expresión proteica de ambos sindecanos y moléculas de adhesión en células LNCaP y PC3, por medio de western blot e inmunofluorescencia para sindecano-2. Se realizaron transfecciones de sindecano-2 en células LNCaP y se determinó la expresión de E-cadherina, ZO-1 y sindecano-1, a través de western blot. Resultados: Se demostró la presencia de sindecano-1 y -2 en ambas líneas celulares. En células PC3 no se observa expresión de E-cadherina y ZO-1. Similares resultados se observaron en las células LNCaP transfectadas, observándose en estas últimas, disminución en la expresión de sindecano-1. Conclusión: Sindecano-1 y -2 están presentes en CaP. La expresión ectópica de sindecano-2 induce cambios en la expresión de moléculas de adhesión. Financiamiento: Fondecyt 11060500.

92. ASOCIACIÓN ENTRE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO-MITOCONDRIA EN CONDICIONES DE ESTRÉS (Endoplasmic reticulum-mitochondria association under stress) **Bravo, R.¹**, Lavadero, S.¹ Centro FONDAP CEMC, Facultades Ciencias Químicas y Farmacéuticas/Medicina, Universidad de Chile¹. El estrés del retículo endoplásmico (RE) genera señales que reorganizan la homeostasis proteica y modulan la decisión de vida o muerte. Aún se desconocen los mecanismos adaptativos metabólicos iniciados en la mitocondria ante esta condición. Este trabajo evaluó si el estrés de RE modula el acoplamiento mitocondria-RE y sus consecuencias en el metabolismo mitocondrial. Se indujo estrés de RE en células HeLa con tunicamicina por 1, 4 y 20 h, determinándose los siguientes parámetros metabólicos: niveles intracelulares de ATP, poder reductor, potencial mitocondrial y consumo de oxígeno. Las características estructurales del RE y mitocondrias se determinaron por microscopía confocal usando RFP destinada al RE y mitotracker green, respectivamente. Se analizó colocalización mediante coeficientes de Manders. La participación del citoesqueleto se analizó utilizando agentes depolimerizantes de microtúbulos y microfilamentos de actina. Tras 4 h, el estrés aumentó el ATP, poder reductor, potencial mitocondrial y consumo de oxígeno. Esta estimulación metabólica resultó transitoria, pues estos indicadores disminuyeron a las 20 h. A las 4 h también hubo redistribución mitocondrial y reticular hacia la región perinuclear, observándose un aumento del acoplamiento entre ambos organelos. La mayor cercanía y estimulación metabólica no se previnieron depolimerizando la actina, pero sí los microtúbulos. Se concluye que el estrés de RE, en etapas tempranas estimula el metabolismo mitocondrial, asociado a su mayor cercanía con el RE. Estos cambios se producen por movimiento de los organelos a lo largo de los microtúbulos. FONDAP 15010006. FONDECYT 1080436.

93. REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO

TESTICULAR (Regulation of testicular glycogen metabolism) **Villarroel, F.¹**, Mancilla, H.¹, Maldonado, R.¹, Angulo, C.¹, Castro, M.A.¹, Slebe, J.C.¹, Concha, I.I.¹ Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile¹.

Por años el depósito de glucógeno ha sido considerado sólo como una reserva energética para diferentes procesos metabólicos; sin embargo, la presencia de glucógeno (o polímeros de glucosa) en distintos tipos celulares puede ejercer un efecto nefasto sobre la célula, induciendo incluso su apoptosis. Durante la espermatogénesis en mamíferos, existe una abundante actividad apoptótica en las células germinales e importantes fluctuaciones en los niveles de glucógeno testicular. Nos hemos propuesto evaluar si la muerte celular intratesticular depende del contenido de glucógeno. Mediante RT-PCR se identificó el transcrito para glucógeno sintasa muscular (MGS) en células de Sertoli y germinales masculinas de rata; sin embargo, sólo en células de Sertoli y espermatoцитos se detectó la expresión de malina y PTG. Además, por inmunofluorescencia se observó una relocalización de MGS, desde el núcleo en espermatoцитos hacia el citoplasma en espermátidas, y con ello un posible cambio en la actividad enzimática. Paralelamente hemos inmunodetectado las proteínas malina y laforina en testículo de rata, sugiriendo al igual que en la enfermedad de Lafora, la participación de estas proteínas en apoptosis y homeostasis del glucógeno en este tejido. Por lo tanto, un desequilibrio en la regulación del contenido de glucógeno podría ser responsable de la muerte de las células germinales masculinas durante espermatogénesis en mamíferos. (FONDECYT 1060135 y 1090740, Dirección de Investigación y Desarrollo, UACH, Beca CONICYT FV).

95. OPTIMIZACIÓN DE METODOLOGÍAS PARA LA PRODUCCIÓN Y ANÁLISIS DEL RECEPTOR DE VITAMINA D OBTENIDO MEDIANTE EL SISTEMA DE BACULOVIRUS

(Optimization of methodologies for the production and analysis of the vitamin D receptor obtained by the baculovirus system) **Ruiz-Tagle, C.¹**, Bruna, C.¹, Montecino, M.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile¹.

En células osteoblásticas la transcripción de genes fenotípicos puede ser estimulada en respuesta a vitamina D₃ (1, 25-dihidroxi vitamina D₃). La hormona se une a su receptor (VDR) y éste heterodimeriza con el receptor de ácido 9-cis-retinoico (RXR). El complejo VDR/RXR se dirige entonces al núcleo donde interacciona con genes blanco y con coactivadores transcripcionales que remodelan la cromatina (SRC-1) y que median su asociación a la RNA polimerasa II (DRIP205). En este trabajo se estudió *in vitro* las interacciones entre VDR y proteínas co-reguladoras de transcripción. Para ello, nos propusimos expresar VDR como proteína de fusión con glutatión-S-transferasa (GST-VDR) a través del sistema de baculovirus/células Sf9 (*Spodoptera frugiperda*). Una vez obtenido el baculovirus que codifica para la proteína, éste fue amplificado hasta alcanzar un título viral igual o superior a 10⁸ pfu/ml, lo que se determinó con *End Point Dilution Assay*. Luego, se realizó una cinética a distintos tiempos y distintos MOI (multiplicidad de infección) con el fin de encontrar las condiciones óptimas para la expresión de la proteína. Posteriormente a su expresión, la proteína GST-VDR fue purificada por cromatografía de afinidad utilizando resina glutatión sefarosa. Finalmente, se analizó la capacidad de GST-VDR de interactuar con coactivadores transcripcionales endógenos de células osteoblásticas, comprobando que esta interacción ocurre en forma dependiente de vitamina D₃. FONDECYT 1095075.

94. PARTICIPACIÓN DE CATEPSINA L EN LA PROGRESIÓN DEL CICLO CELULAR EN CÉLULAS HeLa.

(Participation of human Cathepsin L in cell cycle progression in HeLa cells.) **Aguilar, R.¹**, García-Huidobro, J.¹, Córdova, C.¹, Bustos, P.², Morín, V.¹, Puchi, M.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹. Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción².

Recientemente, catepsina L, cuyo tamaño molecular varía entre 20 a 30 kDa, ha sido descrita en el núcleo de células humanas participando del clivaje de factores de transcripción e histonas, función adicional a la degradación terminal en lisosomas. Nuestro laboratorio caracterizó en erizo de mar una cisteín proteasa nuclear, variante de catepsina L, denominada SpH-proteasa, cuya actividad es necesaria para reestablecer la diploidía postfecundación. Adicionalmente, SpH-proteasa participa en la progresión del ciclo celular, ya que su inhibición detiene la replicación, altera la formación del huso mitótico y detiene el desarrollo embrionario. Como existe homología de secuencia entre Catepsina L humana y SpH-proteasa, investigamos si en núcleos de células HeLa existe una variante de catepsina L, homóloga a SpH-proteasa y si tiene participación en la progresión del ciclo celular. Los resultados demuestran la existencia de una nueva variante de catepsina L nuclear de 60 kDa cuya localización depende de la etapa del ciclo celular. Al utilizar un inhibidor específico de catepsina L en distintas fases del ciclo celular, se demuestra que se enlentece la entrada a la fase replicativa y a mitosis. Por ensayo de inmunoprecipitación se demuestra que esta nueva forma de catepsina L colocaliza con tubulina durante la mitosis. Grant: DIUC 208 037 008-1.0.

96. EFECTO DE COLESTEROL EN LA ORGANIZACIÓN DE LOS LÍPIDOS EN MODELOS DE MEMBRANA

(Effect of Cholesterol on the Lipids Lattice Arrangements in Models Membranes) **Pino, J.¹**, Soto-Arriaza, M.², Cuevas, F.³, Carrasco, V.¹, Valle, C.¹, Sotomayor, C.¹, Aguilar, L.F.¹ Instituto de Química. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Campus Curauma, Valparaíso.¹. Departamento Química-Física. Facultad de Química. Pontificia Universidad Católica de Chile. ². Departamento de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Campus Viña del Mar.³. Patrocinante: González, G.

Es conocido que cambios en el contenido de colesterol alteran las propiedades de la bicapa lipídica y muestran una influencia en la función de proteínas de membrana. Hemos utilizado técnicas de espectroscopia de fluorescencia en estado estacionario y resueltas en el tiempo para estudiar la influencia del colesterol sobre las propiedades de vesículas unilamelares grandes constituidas por DPPC, DOPC y sus mezclas, utilizando dos sondas fluorescentes que se insertan en diferentes regiones de la bicapa. La sonda DPH se ubica en la región hidrofóbica de la bicapa, en contraste, LAURDAN se localiza en la interfase hidrofílica-hidrofóbica. El grado de hidratación de ambos dominios en la membrana fue seguido por los tiempos de vida de fluorescencia de ambas sondas, y la dinámica rotacional fue estudiada a través de las medidas de decaimiento de la anisotropía de fluorescencia. Los cambios en los tiempos de vida de fluorescencia indican que un incremento en el contenido de colesterol en la membrana, produce un cambio significativo en la penetración de agua en ambas regiones sensadas. El contenido de colesterol induce un aumento en la dinámica rotacional de ambas sondas en vesículas de DPPC y una disminución en vesículas de DOPC y DOPC:DPPC. Los resultados muestran que a concentraciones discretas de colesterol se presentan cambios abruptos con máximos y mínimos en todos los parámetros medidos. Dichas concentraciones coinciden con las predichas por la teoría de la super-red.



INDICE GENERAL

Autores	PAG	Autores	PAG	Autores	PAG
Acevedo, C.	61, 63	Buckridge, M.	11, 22	Corrotea, Y.	57
Acuña, V.	57, 58	Bull, P.	54	Corsini, G.	52, 59
Agosin, E.	9, 37	Bunster, M.	14, 28, 41, 43	Coruzzi, G.M.	9, 36, 46
Aguayo, F.	53	Bustos, P.	64	Corvalán, A.	10, 35
Aguayo, L.	12, 26	Cabezas, J.	61, 63	Costa, M.	45
Aguilar, L.F.	64	Cabrera, G.	62	Cruz, N.	14, 33
Aguilar, R.	63, 64	Cabrera, N.	50, 51	Cuevas, F.	64
Alberti, C.	45	Cabrera, R.	6, 30, 42, 44, 58	Córdova, C.	64
Almada, R.	50, 51	Cadena, J.	13, 32	Dagnino, J.	41
Alroy, J.	13, 26	Calderón, I.L.	11, 29	Dale, A.	16, 23
Alvarez, C.	10, 34, 35	Caligari, P.	13, 32	Danhof, L.	11, 22
Alvarez, J.M.	54	Callegari, E.	14, 33, 45	Darlix, J.	15, 29
Alvarez, K.	10, 35	Campbell, H.	54	Davis, J.	11, 22
Alvarez, M.	10, 34, 35, 62	Campos, T.	7, 39, 41	De La Cruz, J.	57
Alvarez-Lueje, A.	52	Camus, M.	10, 34, 35, 62	Deeney, J.	13, 26
Ampuero, D.	6, 31, 54	Canessa, P.	12, 25	Díaz Celis, C.D.	14, 28
Angulo, C.	7, 38, 47, 64	Caniuguir, A.	12, 26, 42	Díaz, W.	58
Araujo, W.	9, 37	Canon, P.	50	Dotto, M.C.	12, 25
Araus, V.	9, 36	Cardemil, E.	15, 28	Dréyer, I.	42
Araya, J.	45	Caro, N. J.	11, 29	Duaso, J.	62
Araya, M.	46	Carrasco, V.	64	Dufey, E.	63
Arbona, V.	50	Cartier, L.	7, 39, 45, 60, 61	Dupree, P.	11, 22
Arce-Johnson	9, 12, 25, 36, 50, 51, 53	Carvajal, N.	6, 14, 28, 31, 44	Elias, A.	16, 18
Arenas, F.	16, 18, 58	Carvalho, L.	55	Elissecthe, J.	55
Argamasilla, R.	50	Carvalho, P.	10, 34, 35, 62	Elorza, A.	13, 26
Armijo, G.	9, 36	Casado, J.	47	Escobar, D.	41
Arrey, V.	63	Casanello, P.	44	Espinosa, Y.	13, 22
Arriagada, G.	41	Casaretto, J.	14, 33, 50, 51	Essus, K.	54
Astuya, A.	52	Castellón, E.	61, 63	Eyzaguirre, J.	14, 33, 45
Babul, J.	42, 44	Castillo, E.	10, 34, 59	Fariás, C.	45
Baez, M.	44	Castro, M.	58	Faúndez, P.	10, 34, 62
Báez, J.	46	Castro, M.A.	7, 38, 47, 64	Fernando, G.	53
Balochi, C.	55	Castro, V.H.	6, 30	Fernie, A.	9, 37
Barriga, A.	45	Cavalier, D.	11, 22	Fernández-Calotti, P.	62
Barriga, G.	15, 29, 60	Chahuán, C.A.	11, 29	Ferrada, E.	42
Bastías, A.	50	Chávez, R.	13, 32	Ferrer, A.	59
Beard, S.	48	Chiong, M.	7, 38	Figuerola, C.R.	12, 25, 57
Becerra, E.	10, 35	Church, J.	10, 35	Figuerola, M.	14, 15, 28, 29
Beltramini, L.M.	8, 21	Cifuentes-Muñoz, N.	15, 29	Flores, F.	54
Benavides, F.	62	Civello, P.M.	12, 25	Flores, C.A.	49
Benítez, J.R.	6, 30	Collados, L.	7, 39, 61	Fornes, R.	10, 34
Beyer, A.	7, 39	Collao, B.G.	11, 29	Fuentealba, J.P.	6, 30
Bianco, F.	13, 32, 53, 55	Concha, I.I.	7, 38, 47, 64	Fuentes, A.	54
Blaudez, D.	51	Contreras, H.	61, 63	Fuentes, D.	9, 37
Bollo Dragnic, S.	16, 19	Contreras, L.	10, 35	Fuentes, L.	44, 55
Bosco, C.	62	Contreras-Levicoy, J.	46, 48, 49	Fuentes, P.	13, 32
Brain-Isasi, S.	52	Corbalán, C.	9, 36	Fuenzalida, J.	48
Bravo, R.	7, 38, 63	Corbalán, R.	10, 35	Gabler, F.	10, 34
Bruna, C.	64	Corkey, B.	13, 26	Gaete-Eastman, C.	43, 55

Autores	PAG	Autores	PAG	Autores	PAG
Gainza, F.I.	51	Huidobro, C.	61, 63	Merino, P.	41
Gajardo, P.	62	Hurtado, F.	14, 28	Miranda, J.P.	6, 31, 54
Galanti, N.	62	Imlay, J.	58	Moena, D.	47
Gallardo-Escárate, C.	49, 52	Iribarren, C.	7, 38	Mohamed, H.	13, 26
Gantz, C.	10, 33	Jalil, J.	7, 40	Molina, A.	13, 26
García Ballesta, J.	15, 18	Jauregui, F.	9, 36	Molina, R.	58
García, R.	55	Jaña-Pérez, N.	14, 28, 43	Monasterio, O.	14, 28, 60
García-Huidobro, J.P.	10, 30	Jerez, C.A.	48	Montecino, M.	41, 47, 64
García, A.	10, 35	Jordana, X.	9, 36, 37	Morales, C.	7, 38
García, D.A.	44	Kaiser, M.	9, 37	Morales-Navarro, S.	42
García, L.	10, 35	Katz, S.	13, 26	Morales-Quintana, L.	43
García-Huidobro, J.	64	Keegstra, K.	11, 22	Moreira-Ramos, S.	46, 38, 49
Garmendia, A.	10, 35	Kemmerling, U.	62	Morello, A.	62
Garrat, R.	42	Kettlun, A.M.	7, 39, 60, 61	Moreno, I.	50
Geneviere, A.	7, 38	Kraiser, T.	56	Morin, V.	7, 38, 63, 64
González, J.	45, 46	Krause, B.	44	Moya-León, M.A.	12, 13, 25, 32, 33, 43, 55, 56, 57
González, X.	57	Krouk, G.	46	Moyano, T. C.	46
González, B.	56	Kwon, H.M.	7, 38	Munita, R.	48
González, E.	50, 51, 53, 56	Laporte, D.	13, 32	Munroe, D.	10, 35
González, F.D.	42	Las, G.	13, 26	Muñoz, C.	45, 46
González, M.	55	Lavandero, S.	7, 10, 16, 23, 35, 38, 63	Muñoz, V.	61
González, S.	56	Leiva, D.	9, 36	Muñoz-Adelantado, E.	47
González, W.	42	Leiva-Ampuero, A.	51	Muñoz-León, I.	60
González, X.	58	León, O.	15, 29	Naulin, P.	52, 57
González-Fernández-Niño, S.	55	Letelier, A.	61	Navarrete, M.	14, 33, 45
Grandy, R.	48	León, G.	9, 37	Navarro, M.	10, 35
Green, P.J.	9, 36	León, L.	50	Navarro, P.	7, 38, 59, 62
Guixé, V.	6, 12, 26, 30, 42, 43	Lobos, M.	6, 31	Norambuena, L.	11, 25, 62
Gutiérrez, A.P.	49	Lobos, S.	49, 52	Norambuena, T.	42
Gutiérrez, J.L.	46, 47	López-Kostner, F.	10, 35	Nova, N.	11, 25
Gutiérrez, R.A.	9, 36, 46, 54	López-Lastra, M.	10, 11, 30, 59, 60, 61	Nunes-Nesi, A.	9, 37
Gutkind, J.S.	12, 18	Lu, C.	9, 36	Obrecht, A.	6, 31
Gysling, K.	48	Lucca, N.	9, 37	Ocaranza, M.P.	7, 38
Gómez, M.I.	9, 36, 37	Maldonado, E.	46, 48, 49	Ojeda, P.	41, 45
Gómez-Cadenas, A.	50	Maldonado, H.	7, 39, 60, 61	Olate, E.	13, 32
Haigh, S.	13, 26	Maldonado, R.	7, 38, 47, 64	Olate, J.	7, 15, 29, 39, 41, 48
Handford, M.	6, 31, 53, 54	Mancilla, H.	7, 38, 47, 64	Olavarría, K.	44, 58
Hansen, S.	14, 28	Mandujano, P.	53	Opazo, M.C.	56, 57
Henríquez, D.	15, 29	Manríquez, N.	11, 25	Orellana, A.	53, 55
Henríquez, M.J.	57	Martínez, G.A.	12, 25	Orellana, M.	62
Hentze, M.W.	8, 18	Martínez-Oyanedel, J.	8, 14, 15, 21, 28, 41	Orellana, P.	10, 35
Hepp, M.	46, 57	Marín, A.	56	Orellana, S.	14, 33
Hermosilla, V.	63	Matsuda, L.	44, 58	Ormazabal, P.	10, 34
Herrera, A.	55	Matus, J.T.	50	Ortega, A. P.	11, 29
Herrera, C.	62	Maureira, A.	48	Osorio, L.	45, 46
Herrera, R.	12, 13, 25, 32, 33, 43, 55, 56, 57	Maya, J.D.	62	Oyanedel, N.	52
Hidalgo, Y.	58	Medina, F.	45	Pando, M. E.	7, 39, 60, 61
Hinrichs, M.V.	7, 15, 29, 39, 41, 48	Mella H., C.	41	Paneque, M.	6, 31
Holuigue, L.	9, 13, 32, 36, 50, 55	Melo, F.	42	Parra, V.	7, 38, 63
Hong, C.	51	Mendoza, H.	56	Pastén, P.	7, 39
Huichalaf, M.	6, 31, 54	Merino, F.	10, 26	Pastor-Anglada, M.	47, 62



Autores	PAG	Autores	PAG	Autores	PAG
Oyanedel, N.	52	Rodríguez, A.	53	Tischler, N.D.	15, 29, 60
Pando, M. E.	7, 39, 60, 61	Rodríguez, F.	10, 30	Torres, M.	45
Paneque, M.	6, 31	Rodríguez, J.	55	Troncoso, C.	57
Parra, V.	7, 38, 63	Rojas, D.A.	46, 48, 49	Troncoso, R.	63
Pastén, P.	7, 39	Rojas, M.C.	57, 58	Twig, G.	13, 26
Pastor-Anglada, M.	47, 62	Rojo, G.	62	Urbina, F.	46, 48, 49
Paula, G.	44	Roldán, J.	10, 35	Uribe, E.A.	6, 31, 44, 49, 52
Pauly, M.	55	Román, P.	54	Vaca, I.	13, 32
Pereira de Souza, A.	11, 22	Romero, C.	10, 34	Valdenegro, M.	55
Pereira, H.	42	Romo, X.	12, 26	Valdés, D.	44
Pérez, J.	16, 18	Rosas, C.	10, 34	Valdés, S.	55
Pérez, V.	63	Roschttardt, H.	9, 36	Valenzuela, M.A.	7, 39, 45, 60, 61
Pérez, A.	41	Rozenblum, E.	10, 35	Valenzuela, P.D.	15, 29, 60
Pérez, N.	45	Ruiz-Lara, S.	14, 33, 50, 51, 56	Valenzuela, S.	55
Pérez, P.	11, 25	Ruiz-Tagle, C.	64	Valenzuela, V.	52
Pérez-Díaz, J.	5	Saavedra, C.P.	11, 29	Valiente-Echevería, F.	10, 30, 59, 60
Pérez-Díaz, R.	51	Saavedra, J.M.	59	Valle, C.	64
Pérez-Castro, R. A.	51	Sabanegh, S.	59	Vallejos, M.	10, 30, 60
Peña-Cortés, H.	50, 51, 56	Sagua, H.	45	Vantman, D.	10, 34
Pimentel, P.	12, 13, 25, 32, 33, 56	Salazar, M.	10, 32	Vargas, D.	15, 29
Pino, J.	64	Salinas, P.	9, 13, 32, 36	Vargas, F.	9, 37
Pino, K.	10, 30	Salvatierra, A.	12, 13, 25, 32, 33	Vásquez, C.	16, 18, 58
Pizarro, L.	13, 32	Sánchez, A.	62	Vásquez, M.	9, 36
Pizarro, P.	45	Sánchez, C.	61	Vega, A.	12, 25, 51
Piña, R.	52	Sandoval, M.	16, 18	Vega, M.	10, 34
Pouchucq, L.	60	Seelenfreund, A.	52	Vera, J.C.	7, 38, 41, 47
Poupin, M. J.	51	Seelenfreund, D.	49, 52	Vera-Otárola, J.	11, 30
Pradenas, G.	16, 19	Sepúlveda, F.	13, 32	Verdejo, H.	10, 35, 63
Prieto, C.	44	Sepúlveda-Ugarte, J.	14, 28	Verdugo, I.	56
Puchi, M.	7, 38, 63, 64	Sepúlveda, C.	15, 28	Vicuña, R.	12, 25, 49
Puente, J.	45	Serrano-Acevedo, J.	50	Vidal, E.A.	9, 36, 46
Pulgar, E.	7, 38, 47	Severín, D.	53	Vidal, M.	46
Py, B.	13, 26	Shirihai, O.	13, 26	Vidal, P.	12, 26
Quest, A.F.	10, 34	Slater, A.W.	42	Vidal, S.	60
Quiñones, K.	10, 26	Slebe, J.C.	7, 38, 47, 64	Villarroel, F.	7, 38, 47, 64
Quintremil, S.	61	Sobrevia, L.	44	Voet, D.	8, 21
Ramdohr, P.	59	Solís, L.M.	10, 35	Voet, J.	8, 21
Ramírez, C.	30	Solís, M.	10, 35	Vorphal, A.	43
Ramos Campos, P.	14, 33	Soto-Arriaza, M.	64	Walzer, G.	13, 26
Ramírez, E.	39, 45	Sotomayor, C.	64	Wikstrom, J.	13, 26
Ramírez, P.	45	Stange, C.	10, 32, 49	Wilkerson, C.	11, 22
Reinoso, C.	58	Steinberg, X.	46, 47	Wu, M.	13, 26
Restovic, F.	9, 36	Stephanopoulos, G.	9, 37	Yakunin, A.	12, 26
Reyes, J.	61	Stiles, L.	13, 26	Yáñez, A.E.	7, 38, 47
Reyes, A.M.	41, 45	Tamayo, K.	52	Yáñez, M.	14, 33
Risca, V.	14, 28	Tanurdzic, M.	46	Yuan, J.	13, 26
Rivas, C.I.	7, 38, 47	Tapia, T.	10, 34, 62	Zepeda, P.	12, 26
Rivas-Pardo, J.A.	43	Tello, M.	59	Zorzano, A.	7, 16, 23, 38
Riveras Hernandez, E.J.	54	Temple, H.	50	Zully, P.	10, 35
Rivero-Jiménez, M.	10, 30, 59	Tirado, A.	49		

97. ALTA D-GLUCOSA INHIBE LA ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS 1 (hENT1) POR ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR TIPO II PARA EL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE β 1 (TGF- β 1) EN ENDOTELIO FETAL HUMANO. (High D-Glucose inhibits Equilibrative Nucleoside Transporter 1 (hENT1) Activity and Expression by Activation of Type II Receptor for Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1) in Human Fetal Endothelium). Vega JL, Puebla C, Casanello P, Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) and Perinatology Research Laboratory (PRL), Department of Obstetrics & Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Introduction: The transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) inhibits expression and activity of hENT1 in a nitric oxide (NO)-dependent manner in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). High extracellular D-glucose (25 mM) also increases the release of TGF- β 1 from primary cultures of HUVEC leading to altered transport of L-arginine and NO synthesis, most likely due to activation of type II TGF- β 1 receptors (T β RII). We have studied whether TGF- β 1 is involved in the inhibitory effect of high D-glucose on hENT1 activity and expression in HUVEC.

Methods: Cells were exposed to D-glucose (5-25 mM, 6-24 h) and/or TGF- β 1 (2 ng/ml, 6 h) and [3 H]adenosine transport (4 μ Ci/ml, 20 sec, 22°C) was measured in absence or presence S-(4-nitrobenzyl)-6-thio-ionosine (ENT1 inhibitor). hENT1 mRNA was estimated by semiquantitative PCR and protein level by western blot. The TGF- β 1 or high D-glucose effect on reporter activity of plasmid constructs containing a promoter region of SLC29A1 (-1114 bp to ATG, pGL3-hENT1-1114) was also analyzed. All assays were performed in cells transduced with an adenovirus to induce expression of a truncated form of T β RII (Ad-tT β RII) or with a control adenovirus (Ad-control, empty vector). Results: D-Glucose reduced in a dose-dependent manner adenosine transport via hENT1, mRNA expression, protein abundance, and pGL3-hENT1-1114 transcriptional activity. TGF- β 1 effects were absent in cells transduced with Ad-tT β RII. Conclusion: High D-glucose reduced hENT1 activity and expression requires activation of native type II receptor for TGF- β 1 in primary cultures of HUVEC.

FONDECYT 1070865/1080534, CONICYT AT-24090199 (Chile). J.L. Vega and C. Puebla hold CONICYT-PhD fellowships.

98.- INSULINA INCREMENTA LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DEL TRANSPORTADOR EQUILIBRATIVO DE NUCLEÓSIDOS 2 EN ENDOTELIO MICROVASCULAR DE PLACENTA HUMANA DE EMBARAZOS CON DIABETES GESTACIONAL. (Insulin increases expression and activity of equilibrative nucleoside transporter 2 in human placenta microvascular endothelial from gestational diabetes pregnancies). Salomón, C., Westermeier, F., Casanello, P., Sobrevia L. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) & Perinatology Research Laboratory (PRL), Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Human endothelial cells from placenta microcirculation (hPMEC) express functional equilibrative nucleoside transporters 1 (hENT1) and 2 (hENT2) in culture. ENTs-mediated adenosine transport is regulated by insulin in human umbilical vein endothelium from normal or gestational diabetic (GD) pregnancies, but no information is available regarding the effect of this hormone in hPMEC. We studied insulin effect on hENT2 expression and activity in hPMEC from GD pregnancies.

Methods. Primary cultures of hPMEC (passage 2) from normal or GD pregnancies were cultured under standard conditions. hENT2-mediated adenosine transport (0-500 μ M adenosine, 4 μ Ci/ml [3 H]adenosine, 22°C), hENT2 protein abundance and mRNA level were determined. Results. Insulin increased hENT2 mediated adenosine transport by ~1.5-fold, but only ~1.2-fold in hPMEC from normal compared with GD pregnancies, respectively. Basal expression of hENT2 (protein and mRNA) was not significant different in cells from normal or GD pregnancies. Insulin increased in a concentration-dependent manner hENT2 protein abundance (half-maximal effect (SC50) ~1 nM), mRNA level (SC50 ~1.2 nM) and transport activity (SC50 ~1.1 nM) in hPMEC. However, all insulin effects were higher (~1.4-fold) in cells from normal compared with GD pregnancies. Conclusion. Human placenta microvascular endothelium is less responsive to insulin regarding hENT2 expression and activity.

This phenomenon could partially explain the insulin resistance exhibited by some fetuses from gestational diabetes.

Supported by FONDECYT 1070865/1080534. C.S. holds a Faculty of Medicine, PUC-PhD fellowship. F.W. holds a CONICYT-PhD fellowship.

