



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

**26 - 29 de Septiembre de 2004  
Reñaca  
CHILE**



# CAMARA DE LA INDUSTRIA FARMACEUTICA DE CHILE

Asociación Gremial

## Nuestra misión es la innovación en salud

Somos el sector de la industria farmacéutica que hace posible el descubrimiento y desarrollo de nuevas terapias. Con estas herramientas, el Cuerpo Médico y los sistemas de salud hacen frente a las enfermedades que afectan a la población mundial.

## Nuestro compromiso es la calidad

Una constante inversión en investigación de nuevos medicamentos, y su fabricación bajo los más exigentes estándares internacionales de calidad, constituyen nuestro aporte a la salud desde hace más de 150 años.

### Asociados

ABBOTT

Alcon

AstraZeneca

Aventis

Aventis Pharma

Bayer

Boehringer Ingelheim

Bristol-Myers Squibb Chile

Lilly

gsk

MERCK

MERCK SHARP & DOHME

NOVARTIS

Novartis

EDUC

Pfizer

Roche

sanofi-synthelabo

SCHERING

Schering-Plough

Wyeth

**XXVII  
REUNIÓN ANUAL  
DE LA  
SOCIEDAD DE BIOQUÍMICA  
Y  
BIOLOGÍA MOLECULAR  
DE CHILE**

26-29 de Septiembre de 2004

Conference Town,  
Reñaca  
CHILE

**Directorio:**

PRESIDENTA	:	Luz María Pérez R.
PRESIDENTA ANTERIOR	:	Pilar Carvallo de S.Q.
VICEPRESIDENTE	:	Claudio Vásquez G.
SECRETARIA	:	María Estela Andrés C.
TESORERA	:	Victoria Guixé L.
DIRECTORES		
Santiago	:	Patricio Arce
	:	Ma Antonieta Valenzuela
Concepción	:	Marta Bunster
Valdivia	:	Gloria León

---



# AUSPICIADORES

TCL

INSTITUTO MILENIO DE ESTUDIOS AVANZADOS  
EN BIOLOGÍA CELULAR Y BIOTECNOLOGÍA

CÁMARA DE LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

FERMELO S.A.

GENESYS

BIOS CHILE I.G.S.A.

PABMB

IADET

SDT-USACH

MERCK

GENEXPRESS



## DOMINGO 26 SEPTIEMBRE

14:30 - 16:00

INSCRIPCIONES

16:00 - 18:15

COMUNICACIONES LIBRES I

Salón I

### Biomedicina y Biología Molecular

Presidenta: Gloria León

Secretaria: Leda Guzmán

- 16:00 CAMBIOS MORFOLÓGICOS, ACTIVIDAD DE CASPASA-3 Y DNA LADDER DEMUESTRAN FOTOINDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN CÉLULAS TUMORALES HUMANAS.** (Morphological changes, caspase -3 activity and DNA ladder demonstrated apoptosis photoinduction in human tumoral cells). Pacheco, A.<sup>1</sup>, Becker, M.I.<sup>2</sup>, Edwards, A.M.<sup>1</sup> <sup>1</sup>Laboratorio de Química Biológica, Facultad de Química, P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. <sup>2</sup>Biosonda Biotecnología S.A.
- 16:15 INMUNOGLOBULINAS UNIDAS CON ALTA ESPECIFICIDAD EN CAPA GERMINAL DE QUISTES HIDATÍDICOS BOVINOS.** (High affinity binding of immunoglobulins to the germinal layer of bovine hydatid cysts) Paredes, R., Godoy, P., Jiménez, V. y Galanti, N. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- 16:30 LA EXPRESIÓN DEL GEN MRP2 ES REGULADA POR LA VÍA DE DESINTOXICACIÓN CELULAR DEPENDIENTE DE ARE-NRF2.** (Mrp2 gene expression is regulated by the cellular detoxification pathway ARE-Nrf2). Vollrath, V., Iruretagoyena, M. Wielandt, A. Chianale, P. Dpto. de Gastroenterología, Facultad de Medicina. Universidad Católica de Chile.
- 16:45 PCR EN TIEMPO REAL PARA CUANTIFICAR CARGA TUMORAL EN NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS.** (Real -Time PCR to Quantify Load Tumoral in Hematologic Neoplasias). Adonis, W.<sup>1</sup>, Castillo, D<sup>1</sup>, Rojas, H<sup>2</sup>, Suárez, D<sup>2</sup>, Salas, G<sup>2</sup>, Ramírez, M<sup>2</sup> & Guzmán, L<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio Nacional y de Referencia de Inmunología. ISP, <sup>2</sup>Sección Inmunología, Hospital Sótero del Río.
- 17:00 PRESENCIA DE MUTACIONES ESPAÑOLAS EN LOS GENES BRCA1 Y BRCA2 EN FAMILIAS CHILENAS CON CÁNCER DE MAMA Y/U OVARIO HEREDITARIO** (Spanish mutations in BRCA1 and BRCA2 genes in Chilean families with hereditary breast and/or ovarian cancer) Torrealba, C.<sup>1</sup>, Fuentes, M<sup>1</sup>, Faundez, P<sup>1</sup>, Alvarez, M<sup>2</sup>, Carvallo, P<sup>1</sup>. Laboratorio Genética Molecular Humana, Depto de Biología Celular, Fac. de Ciencias Biológicas<sup>1</sup>, Fac. de Medicina, Centro de Cáncer<sup>2</sup>. Pontificia Universidad Católica de Chile.

- 17:15 ANÁLISIS MOLECULAR DE LOS GENES MSH2 Y MLH1 EN PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO** (Molecular analysis of MSH2 and MLH1 genes in patients with hereditary colorectal cancer). Álvarez K., <sup>1</sup>Salinas M., <sup>2</sup>Fullerton D., <sup>3</sup>Wistuba I., <sup>2</sup>León F., <sup>2</sup>López F., <sup>1</sup>Carvallo P. <sup>1</sup>Depto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias. Biológicas. <sup>2</sup>Depto. Cirugía Digestiva, <sup>3</sup>Depto de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- 17:30 EFECTOS DE LINFOCITOS T INFECTADOS CON HTLV-I SOBRE CÉLULAS NEURONALES.** (Effects of HTLV-I-infected T lymphocytes on neural cells). García, A<sup>1</sup>, Ramírez, E<sup>2</sup>, Caviedes, P<sup>3</sup>, García, L<sup>1</sup>, Kettlun, AM<sup>1</sup>, Krause, B<sup>1</sup>, Collados, L<sup>1</sup>, Cartier, L<sup>4</sup>, Valenzuela, MA<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Depto Bioquímica-Biología Molecular, Fac Cs Químicas-Farmacéuticas, U Chile; <sup>2</sup>Depto Laboratorios de Salud, ISP; <sup>3</sup>Inst. Cs Biomédicas, Fac Medicina, U Chile; <sup>4</sup>Depto Cs Neurológicas, Fac Medicina, U Chile.
- 17:45 EFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO EN LA INTERACCIÓN MOLECULAR Y FUNCIONAL ENTRE COREST Y HSP70.** (Effect of heat stress on the molecular and functional interaction between CoREST and Hsp70). Gómez, A. y Andrés, M.E. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
- 18:00 CÉLULAS DEL HOSPEDERO BOVINO ESTÁN PRESENTES EN CAPA GERMINAL DE QUISTES HIDATÍDICOS DE *Echinococcus granulosus*** (Host bovine cells are present in the germinal layer of *E. granulosus* hydatid cysts) Paredes R., Cabrera G., Ayala A., Cabezón C. y Galanti N. Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

18:15 - 18:45

CAFÉ

19:00 - 20:30

CONFERENCIA INAUGURAL

Salón I

**Un Nuevo Paradigma Para la Bioquímica del Siglo 21:  
Los Códigos Simbólicos Orgánicos**

Dr. Tito Ureta

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

Presenta: Luz María Pérez

21:00

COCKTAIL INAUGURAL Y CENA

## LUNES 27 SEPTIEMBRE

9:00 - 11:00

### COMUNICACIONES LIBRES II

Salón I

#### Estructura y Función de Proteínas I

Presidente: Jaime Eyzaguirre

Secretaria: Marta Bunster

- 9:00 CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA AGMATINASA DE CEREBRO DE RATA.** (Cloning and characterization of rat brain agmatinase) Uribe, E. Enriquez, S., Salas, M., López, V. y Carvajal, N. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.
- 9:15 RESVERATROL BLOQUEA LA ACTIVIDAD DE GLUT1 POR UNIÓN AL SITIO PARA D-GLUCOSA EN LA CARA EXOFACIAL DEL TRANSPORTADOR** (Resveratrol blocks Glut1 activity by binding to the D-glucose site on the transporter exofacial face). Oyarzún, I. y Reyes, A.M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia.
- 9:30 RECONSTITUCIÓN DE UN ENSAYO DE TRANSCRIPCIÓN IN VITRO CON FACTORES RECOMBINANTES Y PROTEÍNAS PURIFICADAS DE *Schizosaccharomyces pombe*** (A reconstituted transcription assay with recombinant factores and purified proteins from *S. pombe*). Bernal G, Tamayo E, Maldonado, E. Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Fondecyt 1010824.
- 9:45 PREDICIÓN DE LA ESTRUCTURA 3D DEL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT1 POR HOMOLOGÍA EVOLUTIVA.** (Predicting the 3D structure of the glucose transporter Glut1 by a novel evolutionary homology strategy). <sup>1</sup>Zúñiga, F.A., <sup>1</sup>Ormazabal, V., <sup>2</sup>Salas, A., <sup>2</sup>Fischbarg, J. & <sup>1</sup>Vera, J.C. <sup>1</sup>Depto. Fisiopatol., Fac. Cs Biol., Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Dept. Ophthalmol., Columbia University, NY, USA.
- 10:00 PREDICCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS INTERACCIONES LONGITUDINALES Y LATERALES EN LOS POLÍMEROS DE FtsZ** (Prediction and characterization of longitudinal and lateral interactions in FtsZ polymers). Garcés, A., Arbildua, J. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 10:15 EN CONTRA DEL MODELO ESTABLECIDO: FBPASA SE EXPRESA EN CÉLULAS BETA PANCREÁTICAS.** (Against of a current notion: FBPase is expressed in pancreatic beta cells.) Bertinat, R., Gatica R., Montero F., Yáñez, A.J. y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

**10:30 METILXANTINAS Y D-GLUCOSA SE UNEN A SITIOS DISTINTOS EN EL TRANSPORTADOR DE HEXOSAS GLUT1** (Methylxanthines and D-glucose bind to different sites on the hexose transporter GLUT1) Ojeda, P. y Reyes, A. M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

**10:45 ROL DEL POTENCIAL ELECTROSTÁTICO EN LA CONDUCTANCIA DE CANALES DE K<sup>+</sup> hSlo.** (Electrostatic Potential Role on the Conductance of hSlo K<sup>+</sup> Channel). González-Nilo, F.\*, González, W.\*, Brauchi, S.<sup>§</sup>, Orio, P.<sup>§</sup>, Zaelzer, C.<sup>§</sup>, Riadi, G.\*, Carvalho, I.<sup>§</sup> y Latorre, R.<sup>§</sup>. \*Centro de Bioinformática, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca. <sup>§</sup>Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo Prat 514, Valdivia.

9:00 - 11:00

### COMUNICACIONES LIBRES III

Salón II

#### Bioquímica y Biología Molecular Vegetal

Presidente: Xavier Jordana

Secretaria: Ana Gutiérrez

**9:00 CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA TRANSPORTADOR DE ELECTRONES ASOCIADO A MONOOXIGENASAS DE GIBERELINAS EN MUTANTES DE *Gibberella fujikuroi* CARENTES DE P450 REDUCTASA.** (Characterization of the electron transport system associated to gibberellin monooxygenases in P450 reductase deficient mutants from *Gibberella fujikuroi*.) Troncoso, C., Bocca, P., Cárcamo, J. y Rojas, M.C. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

**9:15 REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE SEMILLAS COMO CONSECUENCIA DEL SILENCIAMIENTO DEL GEN *SDH2-3* EN *Arabidopsis thaliana*** (A reduced seed set as consequence of *SDH2-3* gene silencing in *Arabidopsis thaliana*). León, G. y Jordana, X. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

**9:30 EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS INDUCIDAS TEMPRANAMENTE POR LUZ (ELIP) EN *Deschampsia antarctica*** (Expression of early light inducible proteins (ELIP) in *Deschampsia antarctica*). García K, A.<sup>1,3</sup>, Gidekel, M.<sup>1,3</sup>, Corcuera, L.<sup>2</sup>, Bravo, L.<sup>2</sup>, Gutiérrez, A.<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular Vegetal, Instituto de Agroindustrias, Universidad de la Frontera. <sup>2</sup>Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. <sup>3</sup>Vitrogen, S.A. Patrocinio: Ana Gutiérrez Moraga.

**9:45 PROPIEDADES CATALÍTICAS DE LA C20 OXIDASA DE GIBERELINAS DE *Gibberella fujikuroi* EN AUSENCIA DE LA P450 REDUCTASA.** (Catalytic properties of the gibberellin C20 oxidase from *Gibberella fujikuroi* in the absence of P450 reductase). Bocca, P., Troncoso, C. y M.C.Rojas. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Casilla 653 Santiago, Chile.

**10:00 CARACTERIZACIÓN DEL PROMOTOR DEL GEN *SDH2-3* DURANTE LA EMBRIOGÉNESIS EN *Arabidopsis thaliana*** (Gene *SDH2-3* promoter characterization during embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*). Roschztardtzt, H., Gómez, I. y Jordana, X. Laboratorio de Bioquímica, Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

**10:15 CARACTERIZACIÓN DE GENES DE RESPUESTA A FRÍO Y A UV DE *Deschampsia antarctica* DESV.** (Characterization of responsive genes to cold and UV from *Deschampsia antarctica* Desv.). Dinamarca J.<sup>1</sup>, Gidekel M.<sup>1 3</sup>, Bravo L. A.<sup>2</sup> and Gutiérrez A.<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.<sup>2</sup> Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.<sup>3</sup> Vitrogen S.A. Patrocinio: Ana Gutiérrez Moraga

**10:30 CARACTERIZACIÓN EN MONOCOTILEDÓNEAS DE UN GEN DE LA SUBUNIDAD HIERRO-AZUFRE DE LA SUCCINATO DESHIDROGENASA QUE SE EXPRESA EN SEMILLAS.** (Characterization in monocots of a seed-expressed gene for the succinate dehydrogenase iron-sulphur subunit). Clément, P. y Jordana, X. Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

**11:00 - 11:30**

**CAFÉ**

**11:30 - 13:00**

**CONFERENCIA OSVALDO CORI**

Salón I

**LA LIGNINOLISIS: UN PROCESO BIOQUÍMICO MUY PECULIAR.** Rafael Vicuña. Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Presenta: Cecilia Rojas

**13:00 - 14:30**

**ALMUERZO**

**14:30 - 16:15**

**COMUNICACIONES LIBRES IV**

Salón I

**Expresión Génica**

Presidenta: Paulina Bull

Secretario: Eduardo Kessi

**14:30 EFECTO DE LA FUENTE DE CARBONO SOBRE LA ACTIVIDAD DE UN GEN REPORTERO BAJO EL CONTROL DE UN FRAGMENTO PROMOTOR DE LA ENDOXILANASA B** (Effect of the carbon source on the activity of a reporter gene under the endoxylanase B promoter) Díaz, J., Santis, P., Larrondo, L., Eyzaguirre, J. y Bull, P. Lab. Bioquímica. P. Universidad Católica de Chile

- 14:45 ANÁLISIS DE LA REGIÓN PROMOTORA DE GENES LIGNINOLÍTICOS DE *Ceriporiopsis subvermispora*** (Analysis of the promoter region of ligninolytic genes from *Ceriporiopsis subvermispora*) Polanco, R.<sup>1</sup>, Lobos, S.<sup>2</sup> y Vicuña, R.<sup>1</sup> Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile<sup>2</sup>.
- 15:00 EFECTO DE COMPUESTOS OXIDANTES SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES LIGNINOLÍTICOS EN *Ceriporiopsis subvermispora***. (Effect of oxidants on the expression of ligninolytic genes in *Ceriporiopsis subvermispora*). Amoroso A., Vicuña R. Departamento de Genética molecular y Microbiología. Facultad de ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Dr. Rafael Vicuña.
- 15:15 TRANSFORMACIÓN GENÉTICA MEDIANTE DISRUPCIÓN DE GENES DE BIOSÍNTESIS DE CAROTENOIDES EN *Xanthophyllomyces dendrorhous***. (Genetic transformation of *X. dendrorhous* by disruption of carotenoid biosynthesis genes.) Niklitschek, M.; Barahona, S.; Retamales, P.; Lozano, C.; Sepúlveda, D.; Alcaíno, J.; Wozniac, A.; Baeza, M. y Cifuentes, V. Dpto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 15:30 ESTUDIO DEL PROMOTOR COMPARTIDO DE LOS GENES *fet3* Y *ptr1* DEL BASIDIOMICETE *Phanerochaete chrysosporium***. (Study of the shared promoter of the genes *fet3* y *ptr1* from basidiomicete *Phanerochaete chrysosporium*). Agredo, M., <sup>1-2</sup>Polanco, R.,<sup>2</sup>Canessa, P. <sup>1</sup>Lobos, S. y <sup>2</sup>Vicuña, R. <sup>1</sup>Depto de Bioquímica y Biología Molecular. Fac. de Cs. Qcas. y Farmacéuticas. U. de Chile.<sup>2</sup>Depto de Genética Molecular y Microbiología. Fac. de Cs. Biológicas. P. U. Católica de Chile. Patrocinio: Dra. Daniela Seelenfreund.
- 15:45 CONTROL EPIGENÉTICO EN RESPUESTA A LA ADAPTACIÓN ESTACIONAL DE *C. carpio*: LA VARIANTE DE HISTONA macroH2A** (Epigenetic control under seasonal acclimatization: macroH2A histone variant) +Pinto, R.; +Alvarez, M.; +Molina, A.; \*Bouvet, P.; +Vera, M.I. +Lab. De Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello, MIFAB, \*Ecole Normale Supérieure de Lyon, Francia.
- 16:00 INFLUENCIA DE LA FUENTE DE CARBONO EN EL METABOLISMO CAROTENOGÉNICO DE *Xanthophyllomyces dendrorhous***. (Influence of the carbon source on the carotenogenic metabolism of *X. dendrorhous*). Wozniak, A.; Niklitschek, M.; Retamales, P.; Barahona, S.; Lozano, C.; Sepúlveda, D.; Cárdenas, M.; Baeza, M. y Cifuentes, V. Dpto. Cs. Ecológicas, Fac. de Ciencias, U. de Chile.

16:15 - 18:15

**SIMPOSIO**

Salón I

**Bioquímica y Biología Molecular del Cáncer**

Coordinador: Juan Carlos Vera

**16:15 ANTIOXIDANTES Y CÁNCER** (Antioxidants and Cancer) Rivas, C.I., Vera, J.C. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

**16:55 RNA QUIMÉRICOS MITOCONDRIALES: NUEVOS BLANCOS PARA DIAGNÓSTICO Y TERAPIA DEL CÁNCER.** Villegas, J.<sup>1, 2</sup>, Burzio, V.<sup>1</sup>, Villota, C.<sup>1</sup>, Santander, M.<sup>1</sup>, Martínez, R.<sup>1</sup> y Burzio, L.O.<sup>1, 2</sup>. <sup>1</sup>BiosChile I.G.S.A., <sup>1</sup>Millenium Institute of Fundamental and Applied Biology (MIFAB), <sup>1</sup>Fundación Ciencia Para La Vida, Av. Maratón 1943, y <sup>2</sup>Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello, República 252, Santiago, Chile.

**17:35 CAVEOLINA-1 COMO SUPRESOR DE TUMORES EN CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA DE COLON HUMANO (Caveolin-1 as a tumor supresor in human colon adenocarcinoma cells)** Torres, V.<sup>1</sup>, Montoya, M.<sup>1</sup>, Leyton, L.<sup>1</sup>, Quest, A.F.G.<sup>1</sup> <sup>1</sup>Laboratorio de Comunicaciones Celulares, Centro FONDAF de Estudios Moleculares de la Célula (CEMC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago-Chile (Correspondencia: [aquest@med.uchile.cl](mailto:aquest@med.uchile.cl)).

18:15 - 18:45

**CAFÉ**

18:45 - 20:00

**PREMIO MEDALLA DE HONOR HERMANN NIEMEYER**

Salón I

Presentan: Alejandro Reyes y Bernardo González

**RECONSTRUCCIÓN METABÓLICA DE LA DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS AROMÁTICOS A PARTIR DE LA SECUENCIA GENÓMICA DE *Ralstonia eutropha* JMP4** (Metabolic reconstruction of aromatic compounds degradation from the genome sequence of *Ralstonia eutropha* JMP134). Pérez-Pantoja, D.<sup>1</sup>, de la Iglesia, R.<sup>1</sup>, Pieper, D.<sup>2</sup>, González, B.<sup>1</sup> <sup>1</sup>Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile; <sup>2</sup>Division of Microbiology, GBF-German Research Centre for Biotechnology, Braunschweig, Alemania.

20:00 - 21:30

## PANELES

Coordinadores: Ana Preller y Marco Álvarez

- 1 **EL GEN *ubiE* DE *Geobacillus stearothermophilus* V PARTICIPA EN LA EVOLUCIÓN DE DERIVADOS VOLATILES DE SELENIO EN *Escherichia coli*** (The *ubiE* gene of *Geobacillus stearothermophilus* V participates in the evolution of volatile selenium derivatives in *Escherichia coli*). Vásquez, C.C.<sup>1</sup>, Araya, M.A.<sup>1</sup>, Saavedra, C.P.<sup>1</sup>, Chasteen, T.G.<sup>2</sup>, Plishker, M.F.<sup>2</sup>, Swearingen Jr., J.W.<sup>2</sup>; <sup>1</sup>, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile; <sup>2</sup>, Department of Chemistry, Sam Houston State University, Texas, USA.
- 2 **LA BOMBA DE RESISTENCIA A MULTIDROGAS (MDR) *QacC*, FUNCIONA EN SERIE CON *ToiC* CUANDO ES EXPRESADA EN HOSPEDEROS GRAM NEGATIVOS.** (The *Staphylococcus* multidrug resistance (MDR) pump, *QacC*, functions in series with *ToiC* when expressed in Gram-negative hosts). Fuentes, D.E., Navarro, C.A., Tantaleán, J.C.<sup>1</sup>, Araya, M.A., Saavedra, C.P.<sup>2</sup> Pérez, J.M., Calderón I.L., y Vásquez, C.C. Facultad de Química y Biología, USACH; <sup>1</sup>Univ. San Luis Gonzaga, Ica, Perú; <sup>2</sup>Universidad Nacional Andrés Bello.
- 3 **EFEECTO DE LA MUTACIÓN *Tyr23Asp* EN EL CONTROL ALOSTÉRICO DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*.** (Effect of the *Tyr23Asp* mutation in the allosteric control of *E. coli* Phosphofructokinase-2) Pouchucq, L., Baez, M., Cabrera, R., Guixé, V. y Babul, J. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 4 **ANTAGONISMO ENTRE LA UNIÓN DE *MgATP* AL SITIO ALOSTÉRICO Y LA DE FRUCTOSA-6-P AL SITIO ACTIVO EN LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*.** (The allosteric binding of *MgATP* antagonizes the binding of fructose-6-P to the active site in the phosphofructokinase-2 from *E. coli*) Castro, M., Pagliai, F., Cabrera, R., Babul, J. y Guixé, V. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 5 **MODELOS DE LAS SUBUNIDADES *SDH2-1* Y *SDH2-3* DE SUCCINATO DESHIDROGENASA DE *Arabidopsis thaliana*** (Models of the subunits *SDH2-1* and *SDH2-3* of succinate dehydrogenase of *Arabidopsis thaliana*). Roschztardt, H., Jordana, X y Melo F. Laboratorio de Bioquímica, Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
- 6 **PARTICIPACIÓN DEL GEN *cadA* DE *Geobacillus stearothermophilus* LV EN RESISTENCIA A CADMIO EN *Escherichia coli* y en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium** (Participation of the *cadA* gene of *Geobacillus stearothermophilus* LV in cadmium resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium). Henríquez D., Navarro C., Pérez J. M., Vásquez C.C. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

- 7 **EFEECTO DE CATIONES MONOVALENTES EN LA ESTABILIDAD, ESTRUCTURA Y PARÁMETROS CINÉTICOS DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*.** (Effects of monovalent cations in the stability, structure and kinetic parameters of phosphofructokinase-2 from *E. coli*.) Olivari, F., Baez, M. y Babul, J. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 8 **ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN Y FUNCIÓN DE NURR1 EN LA LÍNEA CELULAR RCSN-3.** (Study of Nurr1 expression and function in the RCSN-3 cell line). García T., <sup>1</sup>Vecchiola A., <sup>2</sup>Caviedes P. y <sup>1</sup>Andrés M.E. 1 Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. 2 Programa de Farmacología, ICBM, Universidad de Chile.
- 9 **MODELO DE INTERACCIÓN DE FICOBILIPROTEÍNAS EN UNA VARILLA DEL FICOBILISOMA DE *Gracilaria chilensis*.** (Interaction model of phycobiliproteins in a rod of the phycobilisome from *Gracilaria chilensis*). Figueroa, M<sup>1</sup>. Almonacid, D<sup>2</sup>. Matamala, A<sup>2</sup>. Bunster, M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Biofísica Molecular, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Cs Biológicas, Universidad de Concepción; <sup>2</sup>Grupo de Química Teórica y Computacional, Facultad de Cs Químicas, Universidad de Concepción.
- 10 **EL ÁCIDO 2,5-METILDIHIDROXICINÁMICO INHIBE AL TRANSPORTADOR DE HEXOSAS GLUT1 POR UNIÓN A SU CARA ENDOFACIAL** (2,5-methyl-dihydroxycinnamic acid inhibits the Glut1 hexose transporter by binding to its endofacial face). W. Bergmann, M. Vargas y A. M. Reyes. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

21:30

CENA

MARTES 28 SEPTIEMBRE

9:00 - 11:30

SIMPOSIO

Salón I

### Bioquímica y Biología Molecular de Parásitos

Coordinador: Norbel Galanti

Financiado parcialmente por

Network for Research and Training in Parasitic Diseases,

SIDA/SAREC

- 9:00 **ROL DEL GEN CON HOMEBOX STALKER EN LA FORMACIÓN DE PROTOESCÓLICES EN *Echinococcus granulosus*.** Ricardo Ehrlich. Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

- 9:25 INMUNOGLOBULINAS Y APOPTOSIS EN LA INDUCCIÓN DE INFERTILIDAD EN QUISTES HIDATÍDICOS DE *Echinococcus granulosus***". Norbel Galanti. Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- 9:50 ESTUDIOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE ANTÍGENOS DE *Echinococcus granulosus*** (Structural and functional studies of *Echinococcus granulosus* antigens). Grimm<sup>1</sup>, E. D.; Chemale<sup>1</sup>, G.; Ferreira<sup>1</sup>, H.B., Polikarpov<sup>2</sup>, I. & Zaha<sup>1</sup>, A. Centro de Biotecnología, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. CNPq, FAPERGS, RTPD Network
- 10:15 EL PAPEL DE LAS FOSFATASAS DE PROTEÍNA EN LA BIOLOGÍA DE PARÁSITOS** Jorge González Unidad de Parasitología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.
- 10:40 GLICÓLISIS DE *Trypanosoma brucei* COMO BLANCO PARA EL DISEÑO RACIONAL DE DROGAS** José Martínez-Oyanedel. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción
- 11:05 POTENCIACIÓN DE DROGAS ANTI-CHAGÁSICAS** Antonio Morello Programa de Farmacología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

**11:30 - 12:00**

**CAFÉ**

**12:00 - 13:00**

**CONFERENCIA SEVERO OCHOA**

Salón I

**MEDITACIONES SOBRE EL METABOLISMO CARBONADO DE LAS LEVADURAS.** Carlos Gancedo. Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC-UAM. Arturo Duperier 4. 28029 Madrid. España.

Presenta: Jorge Babul

**13:00 - 14:30**

**ALMUERZO**

14:30 - 16:30

## COMUNICACIONES LIBRES V

Salón I

### Estructura y Función de Proteínas II

Presidente: Emilio Cardemil  
Secretaria: Claudia Saavedra

- 14:30 IMPORTANCIA DEL RESIDUO GLUTÁMICO 190 EN LA UNIÓN DE  $Mg^{+2}$  Y LAS PROPIEDADES CATALÍTICAS DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*.** (Role of the glutamic 190 residue in the binding of  $Mg^{+2}$  and catalytic properties of phosphofructokinase-2 from *E. coli*). Parducci, R., Cabrera, R. y Guixé, V. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 14:45 IMPORTANCIA DE LAS CISTEÍNAS 238 Y 295 EN LAS INTERACCIONES ENTRE LAS SUBUNIDADES EN EL DÍMERO Y EN EL TETRÁMERO DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*.** (Role of cysteines 238 and 295 in the intersubunit interactions in the dimer and tetramer forms of *E. coli* phosphofructokinase-2). Caniuguir, A., Cabrera, R., Babul, J. y Guixé, V. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 15:00 ACTIVIDAD AGMATINASA DE LAS VARIANTES N130D y S137C DE ARGINASA DE HÍGADO HUMANO** (Agmatinase activity of the N130D and S137C variants of human liver arginase). Orellana, M.S., Alarcón, R., Enríquez, P., Carvajal, N. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.
- 15:15 CONSERVACIÓN DE LAS RUTAS DE CAMBIOS CONFORMACIONALES EN FAMILIAS DE PROTEÍNAS** (Conservation of the conformational changes patterns in protein families). Arbildua, J. Sánchez, R. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Department of Physiology and Biophysics, Institute for Computational Biomedicine, Mount Sinai School of Medicine, New York, USA.
- 15:30 PURIFICACIÓN Y PROPIEDADES DE LAS ACETIL XILANO ESTERASAS DEL HONGO *Penicillium purpurogenum*.** (Purification and properties of the acetyl xylan esterases from the fungus *Penicillium purpurogenum*). Navarrete, M.<sup>1</sup>; Ravanal, M. C.<sup>1</sup>; Norambuena, P.<sup>2</sup>; Fuentes, A.<sup>2</sup>; Biely, P.<sup>3</sup> y Eyzaguirre, J.<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello; <sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile y <sup>3</sup>Academia de Ciencias de Eslovaquia, Bratislava.
- 15:45 DINÁMICA MOLECULAR DE P53: COMPARACIÓN ENTRE LA PROTEÍNA SILVESTRE Y MUTANTE CYS135ARG.** (Molecular Dynamics of p53: Comparison between Wild Type and Mutant Cys135Arg). Riadi, G.<sup>1</sup>, González, W.<sup>1</sup>, Aranda, M.<sup>2</sup>, González, D.<sup>1</sup> 1. Centro de Bioinformática, Universidad de Talca. 2. Fac. de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

**16:00 MODELO TRIDIMENSIONAL Y CORRELACIÓN FUNCIONAL DE SITIOS DE UNIÓN DE NUCLEÓTIDOS EN LOS TRANSPORTADORES DE VITAMINA C.** (Vitamin C transporters: 3D model and functional correlate of nucleotide binding sites). Ormazabal V., Zúñiga F.A., & Vera J.C. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.

**16:15 RELEVANCIA DE LA ARGININA 70 EN LA CATÁLISIS DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA DE *Saccharomyces cerevisiae*.** (Relevance of arginine 70 for catalysis in *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase) Pérez, E., Ravanal, C., Flores, M., Aroca, F. y Cardemil, E. Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

**16:30 - 17:00**

**CAFÉ**

**17:00 - 19:00**

**TALLER**

**Educación en Bioquímica**  
Coordinador: Luz María Pérez

**17:00 EL COMITÉ DE EDUCACIÓN DE LA UNIÓN INTERNACIONAL DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IUBMB** (The Education Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, IUBMB) Hidalgo, C. Chair, Comité Educación IUBMB, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula e Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

**17:20 NEW APPROACHES TO EDUCATING UNDERGRADUATES IN THE MOLECULAR LIFE SCIENCES** Bell, J. E. Floyd D. & Elizabeth S. Gottwald Chair in Chemistry at the University of Richmond, USA.

**18:20 USO DE HERRAMIENTAS COMPUTACIONALES EN LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA** (Use of computational tools in biochemistry teaching). Herrera, R., Moya-León M.A. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, 2 Norte 685 Talca Chile.

**18:40 MATERIAL VISUAL 3D COMO COMPLEMENTO A LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA. LA ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS COMO UN EJEMPLO.** (Three dimensional visual contents as a teaching aid in biochemistry. Protein structure as an example). Amthauer, R. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

19:15 - 20:30

CONFERENCIA PABMB

Salón I

**CINÉTICA TRADUCCIONAL Y PLEGAMIENTO DE LAS PROTEÍNAS** (Translation kinetics and protein folding). Ehrlich, R., Marín, M., Deana, A., Cortazzo, P., Señorale, M., Horjales, S. Cota, G., Reiss, C. Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Uruguay

Presenta: Pilar Carvallo

CENA Y FIESTA

MIÉRCOLES 29 SEPTIEMBRE

10:00 - 11:15

COMUNICACIONES LIBRES VI

Salón I

**Estructura y Función de Proteínas III**

Presidente: Nelson Carvajal

Secretaria: María Antonieta Valenzuela

**10:00 ESTUDIOS ESTRUCTURALES DE LA CysK DE *Geobacillus stearothermophilus* V: IMPORTANCIA DEL RESIDUO TIROSINA 298.**

(Structural studies of the CysK of *Geobacillus stearothermophilus* V: importance of the tyrosine 298 residue). Pérez J.M.\*; Muñoz C\*; Arenas, M.\*\*\*; Encinas, M.\*; González, D.\*\*\*; Fuentes, D.\*; Araya, A. \*\*\*; Vásquez, C.\* y Saavedra, C. \*\*\*. Fac. Química y Biología, USACH\*; Fac. Ciencias Salud, UNAB\*\*, UTALCA\*\*\*.

**10:15 PRESENCIA DE EFECTORES RESPONSABLES DE LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA EN EPIMASTIGOTES DE *Trypanosoma cruzi*. EVIDENCIAS BIOQUÍMICAS**

(Presence of effectors responsible for the programmed cell death in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. Biochemical evidences). <sup>1,2</sup>Jiménez, V., <sup>2</sup>Paredes, R., <sup>1</sup>Sosa M.A. y <sup>2</sup>Galanti, N. <sup>1</sup>IHEM, Facultad de Ciencias Médicas, UNCuyo, Argentina - <sup>2</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

**10:30 IDENTIFICACIÓN DE LOS DETERMINANTES MOLECULARES DE LA INTERACCIÓN DE LAS GLURS DE *Acidithiobacillus ferrooxidans* CON EL tRNA<sup>GLU</sup>**

(Identification of the molecular determinants of the interaction of GluRS from *A.ferrooxidans* with tRNA<sup>Glu</sup>). Inostroza, C.\*, Salas, B.<sup>&</sup>, González, F.<sup>&</sup> y Orellana, O.\*. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>&</sup> Centro de Bioinformática, Universidad de Talca.

**10:45 MODELO MOLECULAR DEL SENSOR DE POTENCIAL EN LOS CANALES DE K<sup>+</sup> SHAKER** (Molecular model of the voltage sensor in *Shaker* K<sup>+</sup> channels) González, W.\*, González, C.§, Morera, F.§, Rosenmann, E.§, Álvarez, O., González-Nilo, F.\* y Latorre, R. §\* Centro de Bioinformática, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca, email: wgonzalez@utalca.cl. §Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo Prat 514, Valdivia. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago. Fernando D. González-Nilo, PATROCINADOR.

**11:00 ASPECTOS MECANÍSTICOS, ESTEQUIOMETRÍA Y ORDEN DE UNIÓN DE SUSTRATOS EN EL TRANSPORTADOR DE VITAMINA C SVCT2.** (Mechanistic aspects, stoichiometry and substrate binding order of the vitamin C transporter SVCT2). Godoy, A., Vera, J.C. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

**11:30 - 12:00**

**CAFÉ**

**12:00 - 13.30**

**INCORPORACIONES**

Presidente: Claudio Vásquez

Secretario: Norbel Galanti

**12:00 FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*: BASES ESTRUCTURALES DE LA REGULACIÓN ALOSTÉRICA Y LA CATÁLISIS ENZIMÁTICA.** (Phosphofructokinase-2 from *E. coli*: Structural bases of the allosteric regulation and enzymatic catalysis) Cabrera, R. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

**12:30 INICIACIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN RETROVIRUS.** (Translation initiation in retroviruses) Lopez-Lastra M. Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Marcoleta 391, Santiago, Chile.

**13:00 SOBRECARGA CRÓNICA DE HIERRO (SCFe) EN LA RATA: ROL HEPATOPROTECTOR DEL ÓXIDO NÍTRICO (NO).** (Chronic Iron Overload in rats: role hepatoprotector of nitric oxide). Cornejo, P., Varela, P., Videla, L.A., Fernández, V. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Patrocinio: Dra. Virginia Fernández A.



## CONFERENCIA INAUGURAL

UN NUEVO PARADIGMA PARA LA BIOQUÍMICA DEL SIGLO 21: LOS CÓDIGOS SIMBÓLICOS ORGÁNICOS (A new paradigm for the Biochemistry of the 21st century: the organic symbolic codes). Tito Ureta, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La Bioquímica vive un período de "ciencia normal". En efecto, el quehacer actual se enmarca en el paradigma reduccionista iniciado en 1953 con la doble hélice del DNA. No obstante, hay señales que sugieren la llegada de paradigmas nuevos y por lo tanto de una inminente "revolución bioquímica". Uno es la noción holista de complejidad y sus propiedades emergentes. Otra, la proposición de códigos orgánicos en el origen de las grandes transiciones evolutivas moleculares. Código es la correspondencia entre dos 'mundos', la que requiere de moléculas codificadoras capaces de ejecutar dos procesos independientes de reconocimiento entre los dos mundos. En el proceso de traducción, las secuencias de ácidos nucleicos se representan simbólicamente en un lenguaje de aminoácidos y el 'mundo RNA' se convierte en un 'mundo proteico'. El codificador es el sistema ribonucleoproteína que opera como tercero entre genes y proteínas. El único código conocido es el código genético, pero hay buenas evidencias para suponer la existencia de un segundo código simbólico subyacente a la invención del lenguaje. Para Carl Woese, la novedad evolutiva sólo aparece cuando una entidad biológica pre-existente adquiere la capacidad de representarse a sí misma (lo que es y lo que hace) en alguna forma simbólica. El mundo simbólico resultante se convierte en un espacio, cualitativamente nuevo, de oportunidades para el escrutinio por la selección natural. Otros códigos orgánicos, de los cuáles no nos percatamos, podrían explicar procesos moleculares como, entre otros ejemplos, los procesos de transducción de señales y su relación con la visión, el tacto, el olfato y el gusto. Si los códigos existen deben haber tenido orígenes e historias evolutivas y, sobre todo, deberemos explorarlos en cuanto a sus mecanismos moleculares específicos. Es ésto, quizás, el gran desafío de la Bioquímica del siglo 21.

## CONFERENCIA SEVERO OCHOA

MEDITACIONES SOBRE EL METABOLISMO CARBONADO DE LAS LEVADURAS. Carlos Gancedo, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC-UAM. Arturo Duperier 4. 28029 Madrid. España. cgancedo@iib.uam.es

En plena era post-genómica cabe plantearse la cuestión de la utilidad del estudio del metabolismo y sus mecanismos de control. En esta presentación se va a intentar poner de manifiesto que precisamente las expectativas tecnológicas creadas por el desarrollo de la genómica y otras "ómicas" relacionadas han obligado a volver al estudio del metabolismo y han abierto nuevas perspectivas a la comprensión del mismo. En el caso de las levaduras, el intento de convertir las en fábricas celulares para la producción de compuestos de alto valor añadido ha hecho necesario el reexamen de ciertos conocimientos sobre el metabolismo carbonado así como la toma en consideración el importante papel desempeñado por los balances redox y la compartimentación celular. La interacción entre la vía de síntesis de trehalosa y la glicólisis y la aparente falta de efectos sobre esta vía de la eliminación de controles sobre la fosfofructokinasa servirán de ejemplos para mostrar el hallazgo de la existencia de interacciones insospechadas entre vías metabólicas y de resultados que cuestionan la importancia de mecanismos de control bien establecidos. Asimismo se presentará algún ejemplo de la necesidad de un conocimiento profundo del metabolismo para una modificación racional de vías metabólicas. A lo largo de la presentación se mostrará que no es inmediata la extrapolación de conocimientos sobre regulación metabólica entre diversos géneros de levadura.

## CONFERENCIA OSVALDO CORI

LA LIGNINOLISIS: UN PROCESO BIOQUÍMICO MUY PECULIAR. Rafael Vicuña, Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Cada año, las plantas sintetizan unas  $3 \times 10^{10}$  toneladas de lignina. La estructura irregular y altamente compleja de este polímero aromático dificulta su degradación, proceso que sin embargo es fundamental para el reciclaje del carbono orgánico en la biósfera. Solo algunos basidiomicetes son capaces de biodegradar la lignina, gracias a que secretan al medio una serie de enzimas oxidativas que actúan a través de radicales libres.

La ligninólisis presenta una serie de peculiaridades. Las enzimas son diversas y todas son inespecíficas, puesto que actúan a través de mediadores. La identidad de las enzimas varía en las distintas especies de hongos y éstas se presentan siempre como familias de isoenzimas. Otro rango distintivo de la ligninólisis es que el proceso no puede ser reconstituido *in vitro*.

Por varios años hemos estudiado el sistema ligninolítico del hongo *Ceriporiopsis subvermisporea*, para lo cual hemos utilizado herramientas químicas, bioquímicas, de la genética molecular y de la genómica. Hemos identificado las enzimas que lo componen (manganeso peroxidasa y lacasa) y avanzado bastante en la exploración de los mecanismos que regulan su expresión. Asimismo, hemos propuesto un ingenioso circuito químico para la producción extracelular de peróxido de hidrógeno, compuesto esencial en la ligninólisis.

Durante la conferencia se mostrarán los principales hallazgos de esta línea de trabajo, poniendo un particular énfasis en las vicisitudes que se han presentado en el transcurso del tiempo, las que por lo demás son muy propias de la investigación científica.

## CONFERENCIA PABMB

CINÉTICA TRADUCCIONAL Y PLEGAMIENTO DE LAS PROTEÍNAS (Translation kinetics and protein folding). Ricardo Ehrlich, Marín, M., Deana, A., Cortazzo, P., Señorale, M., Horjales, S. Cota, G., Reiss, C. Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Uruguay

El desciframiento de los mecanismos implicados en el plegamiento de una proteína *in vivo* sigue siendo un desafío abierto, cuya relevancia es enfatizada por el creciente número de patologías a las cuales se asocian proteínas plegadas en forma incorrecta. Diversos factores son gravitantes en ese proceso: estructura primaria, interacciones transitorias con otras macromoléculas, fenómenos catalíticos, contextos celulares particulares. Considerando que la traducción de una mRNA es un proceso discontinuo, hemos estudiado el rol de los cambios de velocidad de lectura del mRNA en el plegamiento *in vivo* de las proteínas. La modulación de la velocidad traduccional se ha asociado a la utilización diferencial de los tripletes, que serán descodificados por tRNAs isoaceptores presentes en concentraciones diversas en la célula. Introduciendo mutaciones silenciosas, reemplazando codones por sus sinónimos, hemos verificado el efecto de las mismas en la cinética traduccional y estudiado las consecuencias en el plegamiento de diversas proteínas. Habiendo trabajado en particular en sistemas bacterianos, la introducción de entencimientos tuvo diversos y severos resultados, consecuencia de desacoplamientos entre transcripción y traducción. Por la introducción de tripletes sinónimos que aceleraban la traducción de tramos específicos, se produjeron alteraciones del plegamiento que llegaron a insolubilizar la proteína correspondiente. Nuestros resultados sugieren que mutaciones silenciosas, introduciendo cambios en las velocidades de traducción, pueden alterar de manera dramática las vías de plegamiento de una proteína.

Agradecimientos: CSIC y PEDECIBA (Uruguay)

# **SIMPOSIOS**

SIMPOSIO  
**Bioquímica y Biología Molecular de Parásitos**  
Coordinador: Norbel Galanti

ROL DEL GEN CON HOMEBOX *STALKER* EN LA FORMACIÓN DE PROTOSCÓLICES DE *Echinococcus granulosus* (Role of the homeobox-containing gene *stalker* in *Echinococcus granulosus* protoscolex formation) Ehrlich, R., Martínez Debat, C. Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

El desarrollo de las formas larvarias de los Cestodes, plantea interesantes problemas en relación a la determinación del número y la polaridad de los eventos de proliferación y diferenciación. El gen con homeobox *stalker* de *Echinococcus granulosus*, se encuentra asociado a etapas tempranas de esos eventos en este parásito, constituyendo un singular marcador para descifrar las bases moleculares de los mismos. En *E. granulosus* (phyl. Plateminta; clase Cestodae) se han aislado una serie de genes con homeobox. Algunos de ellos pertenecen al tipo *Hox*, involucrados en la determinación del eje antero-posterior animal. Otros de los genes con homeobox aislados, pertenecen a la familia *NK*, que ha sido descrita como codificante de factores transcripcionales que intervienen en la determinación de estructuras mesodérmicas en diversos sistemas.

*Eghbx3/Stalker* fue aislado de una biblioteca genómica de *E. granulosus* y ha sido clasificado dentro de la sub-familia *NK-2*. Durante el ciclo parasitario, se expresa en diferentes estadios. En la tenia adulta, primero aparece entre las ventosas y luego en la genitalia en maduración. En la forma larvaria, aparece relacionado con la morfogénesis temprana de los protoescólices (PS). Su expresión, en característicos anillos que sugieren un proceso de difusión a partir de un evento puntual inicial, está asociada a procesos de proliferación de la capa germinativa que darán lugar a la generación de PS. *Stalker* podría estar incluido entre los factores que determinan las opciones morfológicas en las larvas de los Cestodes.

Agradecimientos: CSIC y PEDECIBA (Uruguay).

INMUNOGLOBULINAS Y APOPTOSIS EN LA INDUCCIÓN DE INFERTILIDAD EN QUISTES HIDATÍDICOS DE *Echinococcus granulosus*. (Immunoglobulins and apoptosis in the induction of infertility in *Echinococcus granulosus* hydatid cysts) Paredes, R., Jiménez V., Cabezón, C., Cabrera, G., Iragüen, D. y Galanti, N. Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La hidatidosis es una zoonosis con consecuencias en la salud humana y de animales domésticos. Es causada por quistes del platelminto parásito *Echinococcus granulosus*. En su parte interna, los quistes presentan una capa germinal que genera protoescólices (PS), formas del parásito infectivas para cánidos. Existen quistes hidatídicos fértiles (producen PS), e infértiles. No se conocen los mecanismos celulares y moleculares responsables de la fertilidad o infertilidad de los quistes.

Por SDS-PAGE y Western blot, así como por inmunohistoquímica, hemos identificado inmunoglobulinas fuertemente unidas a la capa germinal de los quistes; solo pueden ser extraídas con alta fuerza iónica o con agentes caotrópicos. Se encuentran principalmente en la fracción nuclear de la capa germinal y su concentración es significativamente mayor en quistes infértiles.

Por otra parte, por TUNEL, análisis morfológico de núcleos, cuantificación de caspasa 3 activa y fragmentación de DNA, hemos detectado apoptosis en capa germinal de quistes infértiles, significativamente mayor que en quistes fértiles.

Nuestros resultados sugieren que la infertilidad de los quistes hidatídicos está determinada, al menos en parte, por la respuesta inmune humoral del hospedero, que induciría apoptosis en las regiones de la capa germinal que producen PS. Proyecto Fondecyt 1010817 y RTPD-Network (SIDA/SAREC)

ESTUDIOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE ANTÍGENOS DE *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* (Structural and functional studies of *Echinococcus granulosus* antigens). Grimm<sup>1</sup>, E. D.; Chemale<sup>1</sup>, G.; Ferreira<sup>1</sup>, H.B., Polikarpov<sup>2</sup>, I. & Zaha<sup>1</sup>, A. Centro de Biotecnología, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. CNPq, FAPERGS, RTPD Network

Among the major hydatid cyst fluid (HCF) components of parasite origin that are immunogenic to the intermediate host, the antigen 5 (Ag5) and the antigen B (AgB) were considered the most relevant. Crude HCF antigen preparations, as well as antigen B enriched fractions have been used in human cystic hydatid disease (CHD) immunodiagnosis. More recently, several genes encoding antigens have been cloned and expressed in *Escherichia coli*. Among these genes, those encoding AgB subunits and a gene encoding EgAFFF, an actin filament-fragmenting protein (AFFF) have been analyzed in more detail by our group. Since the first description of an AgB subunit sequence (AgB8/1), several other AgB-related sequences have been described, showing that AgB is encoded by a gene family. The available sequences can be grouped in five clusters, corresponding to *EgAgB1-5* genes, but there are several variants within each cluster, with minor differences between them. This variability may have important implications for host-parasite interactions, e.g. in active strategies for parasite evasion from the host immune system, inhibition of host protease activity, and possible interaction with lipids. Recombinant AgB subunits (rAgB8/1 and rAgB8/2) have been used in immunoassays for the detection of circulating antibodies CHD patients' sera. rAgB8/2 presented the highest sensitivity (93.1%), considering the group of sera from patients with surgically confirmed CHD, and specificity (99.5%), and is being proposed as the basis for an immunodiagnostic test. The recombinant EgAFFF, whose activity as an AFFF has been demonstrated, is being structurally characterized. A 3D molecular model was proposed, based on the structure of gelsolin. This model is being experimentally validated by Xray crystallography, SAXS, and CD analyses.

EL PAPEL DE LAS FOSFATASAS DE PROTEÍNA EN LA BIOLOGÍA DE LOS PROTOZOOS PARASITOS. (The role of protein phosphatases in the biology of protozoan parasites). González, J. Unidad de Parasitología, Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

La fosforilación reversible de proteínas juega un rol central en la integración de señales que participan en la proliferación y diferenciación celular. Varias quinasas han sido identificadas en *T. cruzi* sin asignación de funciones; en *T. vaginalis* la presencia de quinasas y fosfatasa no ha sido reportada. Empleando inhibidores de quinasas y fosfatasa se ha encontrado que: 1) En *T. cruzi* la transformación de tripomastigotes en amastigotes fue bloqueada por ácido okadaico (AO), potente inhibidor de PP2A, a concentraciones tan bajas como 0.1  $\mu$ M; 1-norokadaone, análogo inactivo de AO no afectó dicha transformación. 2) En *T. vaginalis* Caliculina A 15,6 nM inhibió en un 50% la proliferación del parásito y un 90% su adhesión a células HeLa, sugiriendo el probable papel de PP1 en la biología de *T. vaginalis*. El gen de PP2A de *T. cruzi* (TcPP2A) codifica una proteína de 34,5 kDa, con 86% de homología con la subunidad catalítica de la PP2A de *T. brucei* y un bajo número de copias. El Northern blot mostró un transcrito de 2.1 kb en todos los estadios del parásito. El gen de PP1 de *T. vaginalis* (TvPP1) posee un tamaño de 960 pb y codifica una proteína de 34 kDa. El transcrito es de 1,5 Kb y presenta una única copia del gen, con homología de 62% con la PP1 de eucariontes como *M. sativa*, *D. discoideum* y *S. cerevisiae*. La homología de TcPP2A y TvPP1 con sus enzimas homólogas en *Homo sapiens* fue de 55% y 54% respectivamente.

Se analiza el significado biológico y el posible uso racional de estos potenciales blancos quimioterapéuticos.

Financiamiento: Fondecyt 1010270



**SIMPOSIO**  
**Bioquímica y Biología Molecular del Cáncer**  
Coordinador: Juan Carlos Vera

**ANTIOXIDANTES Y CÁNCER (Antioxidants and Cancer)**  
Rivas, C.I., Vera, J.C. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. La vitamina C tiene un rol importante en la mantención de la fisiología humana normal, pero poco se conoce respecto de su papel en la fisiología de células tumorales. Aunque algunos estudios sugieren su uso como un agente anticancerígeno y terapéutico, también puede tener un efecto protector en algunas células tumorales *in vitro*. Por otro lado, el contenido de vitamina C en algunos tumores es mayor que el del tejido normal adyacente y solo la forma reducida, ácido ascórbico, está presente *in vivo*. Utilizando como modelo experimental células tumorales humanas (leucemia mieloide, mama y próstata) analizamos los componentes moleculares involucrados en el metabolismo y la función de la vitamina C. Nuestros resultados indican que la capacidad de las células tumorales para obtener y utilizar vitamina C es afectada directamente por la mayor o menor expresión de estos componentes, lo que en las distintas células se manifiesta como diferencias cualitativas y cuantitativas en la expresión de transportadores y reductasas de vitamina C y en el contenido de glutatión, lo que modifica la resistencia de las células a estrés oxidativo. Así, las células tumorales se caracterizan por acumular elevadas concentraciones intracelulares de antioxidantes, aumentando así su capacidad para sobrevivir a eventos de estrés oxidativo. Un aspecto importante de la información obtenida en estos estudios es que permite sugerir nuevas estrategias para disminuir a voluntad la resistencia de las células tumorales a fármacos que ejercen su acción a través de eventos oxidativos. Proyectos FONDECYT 1040475 y 1020451 y DIUC 03-C4-01.

**RNA QUIMÉRICOS MITOCONDRIALES: NUEVOS BLANCOS PARA DIAGNÓSTICO Y TERAPIA DEL CÁNCER.**  
Villegas, J.<sup>1, 2</sup>, Burzio, V.<sup>1</sup>, Villota, C.<sup>1</sup>, Santander, M.<sup>1</sup>, Martínez, R.<sup>1</sup> y Burzio, L.O.<sup>1, 2</sup>. <sup>1</sup>BiosChile I.G.S.A., <sup>1</sup>Millennium Institute of Fundamental and Applied Biology (MIFAB), <sup>1</sup>Fundación Ciencia Para La Vida, Av. Maratón 1943, y <sup>2</sup>Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello, República 252, Santiago, Chile.

Células tumorales y normales en proliferación sobreexpresan un nuevo transcrito mitocondrial al que denominamos RNA quimérico (chRNA), el cual está formado por un repetido invertido (RI) de 815 nts unido al extremo 5' del RNA 16S mitocondrial. El chRNA forma una larga estructura doble hebra que puede ser aislada por digestión con RNasa, y un asa de 44 nts. Sorprendentemente, células normales en proliferación sobreexpresan también un chRNA antisentido, el cual está formado por al menos tres transcritos que se diferencian por el largo del RI unido al RNA 16S antisentido, y por el tamaño de las asas. Estos RNAs no codificantes se sintetizan en la mitocondria, probablemente por un mecanismo post-transcripcional. En resumen, la sobreexpresión del chRNA sentido y la represión del chRNA antisentido constituye un fenotipo común de todas las células tumorales y que las diferencia de células normales. Con el objeto de estudiar la represión del chRNA antisentido, se immortalizaron queratinocitos humanos (HK) con el virus oncogénico HPV 16 y se determinó la expresión de los chRNA. Los HK expresan tanto el chRNA sentido como antisentido y, temprano post- immortalización (pasaje 19), las células reprimen la expresión del chRNA antisentido en forma similar a la contrapartida tumoral o células SiHa. Las células immortalizadas no son tumorogénicas, en contraste con SiHa, por lo que pueden considerarse como células pre-tumorales.

Por lo tanto, la represión del chRNA antisentido constituiría un cambio temprano en el proceso neoplásico. Además, las células immortalizadas expresan un nuevo chRNA sentido el cual no se detecta ni en células normales ni en tumorales, por lo que puede constituir un nuevo marcador de transformación temprana como en displasias. Finalmente se discutirá cómo, al interferir con la función de estos transcritos con oligonucleótidos complementarios, se induce muerte celular por apoptosis. (International PCT Application N° PCT/US04/15929; (Grants P99-007-F, MIFAB, and Grants DI-02-02, DI 07-02 and DI 32-03, Universidad Andrés Bello, Chile).

**CAVEOLINA-1 COMO SUPRESOR DE TUMORES EN CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA DE COLON HUMANO** (Caveolin-1 as a tumor suppressor in human colon adenocarcinoma cells) Torres, V.<sup>1</sup>, Montoya, M.<sup>1</sup>, Leyton, L.<sup>1</sup>, Quest, A.F.G.<sup>1</sup> Laboratorio de Comunicaciones Celulares, Centro FONDAF de Estudios Moleculares de la Célula (CEMC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago-Chile (Correspondencia: aquest@med.uchile.cl)

La expresión de la proteína caveolina-1 está a menudo reducida en tumores humanos y líneas celulares de cáncer, y su reexpresión bloquea propiedades asociadas con el fenotipo transformado. Específicamente, hemos demostrado que los niveles de caveolina-1 están reducidos en la mucosa tumoral de pacientes con cáncer de colon, en comparación a muestras de mucosa normal obtenidas desde los mismos pacientes. Además, encontramos que los niveles de mRNA y proteína para caveolina-1 están bajos en una variedad de líneas de carcinoma de colon, y la expresión ectópica de caveolina-1 en células HT29 y DLD-1 daña la capacidad formadora de tumores de tales células en ratones inmunosuprimidos. En este aspecto, se ha evidenciado directamente que caveolina-1 funciona como un supresor de tumores en tales modelos celulares. En nuestros últimos estudios, hemos intentado identificar los mecanismos que explicarían esta propiedad de caveolina-1. Estudiamos los cambios transcripcionales que ocurren como consecuencia de la expresión de caveolina-1, mediante un análisis por microarrays, del cual se logró detectar un número considerable de variaciones a nivel de mRNA, y sin embargo, ninguno de estas variaciones condujo a cambios significativos a nivel de cantidad de proteína. En particular, no se observaron cambios en genes regulados transcripcionalmente por  $\beta$ -catenina / Tcf/Lef, una vía blanco establecida para caveolina-1 en otras células, y cuya vía es altamente relevante en la etiología del cáncer de colon, donde se observa frecuentemente mutaciones en la proteína APC. Un análisis detallado reveló de manera inesperada que la regulación dependiente de caveolina-1 sobre la vía de  $\beta$ -catenina / Tcf/Lef parece necesitar de la presencia de E cadherina. Por otra parte, un análisis específico de la interacción de caveolina-1 con iNOS y COX-2 sugiere que ambas proteínas, implicadas como componentes epigenéticos en la génesis del cáncer de colon, son reguladas por la presencia de caveolina-1, aunque mediante distintos mecanismos. De esta manera, nuestros resultados sugieren el efecto de caveolina-1 en la supresión de la formación de tumores en células de carcinoma de colon, podría ser debida principalmente a la modulación post-transcripcional de factores epigenéticos.

Financiado por FONDAF 15010006.

**TALLER**  
**Educación en Bioquímica**  
Coordinadora: Luz María Pérez

EL COMITÉ DE EDUCACIÓN DE LA UNIÓN INTERNACIONAL DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IUBMB (The Education Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, IUBMB) Cecilia Hidalgo, Chair, Comité Educación IUBMB, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula e Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

El Comité de Educación de la IUBMB participa en una amplia gama de actividades educacionales y tiene como propósito central contribuir a diseminar y perfeccionar el conocimiento de la bioquímica y la biología molecular, y de las habilidades técnicas asociadas, entre los científicos que trabajan en estos campos. El Comité también apoya aquellas actividades que tienen como objetivo mejorar las capacidades educativas de quienes tienen la responsabilidad de enseñar estos temas en la universidad o en otras instituciones de enseñanza superior.

El Comité se enfoca principalmente en aquellas áreas del mundo en las cuales la bioquímica y la biología molecular no están óptimamente desarrolladas. Con este propósito, el Comité apoya actividades en estas regiones, en las cuales los participantes pueden discutir la educación bioquímica moderna y los tópicos relacionados. El Comité también distribuye anualmente suscripciones de la revista *Biochemistry and Molecular Biology Education*, sin costo para los quienes las reciben. La lista de personas que reciben esta revista se elabora tras consultar a las cuatro organizaciones regionales asociadas a IUBMB. El Comité apoya financieramente la realización de simposios de educación en los congresos de bioquímica y biología molecular que se realizan en todo el mundo. Apoya, además, la realización de cursos, talleres experimentales y simposios con un claro componente educacional.

Una descripción más detallada de las actividades específicas realizadas por el Comité en los últimos años será presentada en este Taller. También expondré los planes futuros que estamos elaborando para satisfacer en forma más eficiente las necesidades de los educadores en el área de la bioquímica y la biología molecular alrededor del mundo.

NEW APPROACHES TO EDUCATING UNDERGRADUATES IN THE MOLECULAR LIFE SCIENCES Bell, J. E., Floyd D. & Elizabeth S. Gottwald Chair in Chemistry at the University of Richmond, USA.

MATERIAL VISUAL 3D COMO COMPLEMENTO A LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA. LA ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS COMO UN EJEMPLO. (Three dimensional visual contents as a teaching aid in biochemistry. Protein structure as an example). Amthauer, R. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

El gran avance que han experimentado las distintas herramientas informáticas y en particular las de bioinformática, en paralelo con la explosiva acumulación de datos de estructura tridimensional de macromoléculas han permitido que se desarrollen programas con fines de apoyo a la docencia en Bioquímica y áreas afines. En conjunto, las herramientas desarrolladas han permitido realizar un cambio drástico en la enseñanza en la bioquímica que tradicionalmente se apoyaba en soportes bidimensionales (diapositivas, transparencias) a un soporte tridimensional e interactivo que permiten manipular la molécula en tiempo real. De esta forma, las moléculas y macromoléculas, protagonistas de estas ciencias, han cobrado realismo y dinamismo que facilitan como nunca antes, el comprender la directa relación entre estructura y función.

Como ejemplo se mostrará el material visual 3D desarrollado como apoyo a la enseñanza de la estructura de proteínas. Este material se despliega mediante un navegador de internet. Esta característica permite que cualquier usuario con un computador personal pueda utilizar estas herramientas tanto a través de la red o como material de apoyo en clases lectivas. También se entregará la información necesaria para agregar los "plug-in" requeridos para que el navegador despliegue el material en forma apropiada.

USO DE HERRAMIENTAS COMPUTACIONALES EN LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA (Use of computational tools in biochemistry teaching) Herrera, R\*, Moya-León M.A. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, 2 Norte 685 Talca Chile. (raherre@utalca.d)

La disponibilidad de nuevas herramientas computacionales permite elaborar material de apoyo a la enseñanza de la bioquímica. Herramientas que permiten la modelación de proteínas, ayudan a dimensionar la conformación que estas moléculas adoptan en el espacio, y permiten además resaltar la conformación secundaria, y la interacción de ella con sus grupos prostéticos y cofactores.

Con la elaboración de libretos en un ambiente web, es posible abordar la enseñanza de la bioquímica de manera más dinámica, fortaleciendo el autoaprendizaje y reforzando aquellos aspectos de las estructuras tridimensionales que son imposibles de mostrar en un espacio de sólo dos dimensiones. La pantalla puede dividirse, desplegando el libreto sobre un costado y la estructura tridimensional de las moléculas en el otro usando la aplicación de apoyo Chime™. En la elaboración del guión, se puede coordinar los distintos párrafos temáticos y la visualización de las partes de la molécula a que ella se refiere.

Los esfuerzos individuales en la generación de material de enseñanza usando estas nuevas tecnologías han sido reunidos y consolidados en un CD (BioROM 2005), el cual se distribuye gratuitamente entre la comunidad académica. Este esfuerzo ha sido liderado por bioquímicos Españoles, quienes llevan cuatro versiones y actualizaciones de sus materiales. Este manual de ayuda al aprendizaje de la bioquímica, biotecnología y biología molecular puede ser visitado en el sitio <http://www.biorom.unma.es>, o a través de diversos servidores espejos. Se espera que la utilización de estos sistemas de apoyo en la enseñanza facilite la comprensión de la tridimensionalidad de las biomoléculas.

Financiamiento: Proyecto Mecsup TAL103.



FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*: BASES ESTRUCTURALES DE LA REGULACIÓN ALOSTÉRICA Y LA CATALISIS ENZIMÁTICA. (Phosphofructokinase-2 from *E. coli*: Structural bases of the allosteric regulation and enzymatic catalysis) Cabrera, R. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La fosfofructoquinasa-2 (Pfk-2) de *E. coli* es una enzima dimérica que presenta un mecanismo de regulación en el que la unión de MgATP a un sitio alostérico produce inhibición de la actividad y promueve la formación de tetrámeros. Se estudió la relación entre la estructura y función en la Pfk-2 de *E. coli*, con el propósito de establecer las bases estructurales de las propiedades regulatorias de esta enzima. Se caracterizó la unión de MgATP al sitio alostérico y sus efectos sobre el cambio en el estado de agregación y la inhibición de la actividad enzimática. La unión de MgATP al dímero es obligatoria para la formación del tetrámero como lo indican experimentos de la dependencia de la unión de MgATP, del estado de agregación y de la tetramerización inducida por MgATP con la concentración de proteína. Experimentos cinéticos indican que la inhibición alostérica por MgATP se debe tanto al incremento de la  $K_M$  aparente para fructosa-6-P como a la disminución de la  $V_{max}$ . La participación del residuo E190 en la unión de  $Mg^{+2}$  al sitio activo y su relación con la inhibición alostérica fue establecida mediante la mutación de este residuo y la caracterización cinética de la enzima mutante. Del mismo modo, se estableció la función de D256 como residuo catalítico de la Pfk-2. Los cambios en el patrón de dispersión de rayos-X de la Pfk-2 en solución, observados en la enzima libre, en la enzima unida a fructosa-6-P en el sitio activo o a MgATP en el sitio alostérico, se usaron para modelar los cambios conformacionales como movimientos de dominios en la proteína y la configuración espacial de las subunidades en el tetrámero, mediante el uso de un modelo generado por homología. Considerando en conjunto estos resultados, se propone un modelo general que asocia los cambios estructurales con la regulación alostérica de Pfk-2. Proyectos Fondecyt 1010645 y 1040892.

INICIACIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN RETROVIRUS. (Translation initiation in retroviruses) Lopez-Lastra, M. Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Marcoleta 391, Santiago, Chile.

Los retrovirus son una familia de virus de RNA conocidos por inducir una gran variedad de enfermedades neoplásicas e inmunosupresivas incluyendo el SIDA. Estos virus se caracterizan por replicar a través de un intermediario de DNA el cual se integra en el DNA cromosómico del hospedero. Los retrovirus utilizan la maquinaria celular para asegurar la transcripción y posterior traducción de sus mensajeros (mRNA). A pesar de ellos, algunos de los RNA virales pueden ser traducidos empleando un mecanismo alternativo al utilizado por la mayoría de los mRNA celulares. De hecho, el mensajero viral que codifica para las proteínas estructurales Gag y Gag-Pol es capaz de reclutar la subunidad 40S ribosomal de manera independiente al extremo 5', vía un sitio interno de entrada a ribosomas, IRES. El mecanismo por el cual el aparato traduccional del hospedero reconoce los IRES virales aún no ha sido dilucidado. Por ello, como laboratorio, estamos interesados en establecer las bases moleculares de la iniciación de la síntesis de proteínas cap-independiente utilizando los IRES retrovirales como modelo. En esta presentación se discutirá el mecanismo de iniciación de la síntesis de proteínas en retrovirus y su implicancia en el proceso de replicación viral. Además, se especulará sobre la potencialidad de desarrollar nuevas terapias antiretrovirales que utilicen como blanco la síntesis de proteínas virales. (DIPUC 137-2004, Facultad de Medicina PUC)

SOBRECARGA CRÓNICA DE HIERRO (SCFe) EN LA RATA: ROL HEPATOPROTECTOR DEL ÓXIDO NÍTRICO (\*NO). (Chronic Iron Overload in rats: role hepatoprotector of nitric oxide). Cornejo, P., Varela, P., Videla, L.A., Fernández, V. Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Patrocinio: Dra. Virginia Fernández A.

La SCFe es una condición que induce estrés oxidativo (EO) hepático. El \*NO, radical libre sintetizado por la NOS, es considerado principalmente como un mediador antiapoptótico en el hígado. El objetivo de este trabajo fue demostrar que el \*NO constituye un factor de protección frente a la hepatotoxicidad que podría desencadenar la SCFe en la rata. Para evaluar esta propuesta se administró a ratas una dieta enriquecida en Fe-carbonilo 3% durante 2 a 12 semanas, y se inhibió la síntesis de \*NO con L-NAME en el agua de bebida (100 mg/L). Después de 4 y 6 semanas el tratamiento con Fe incrementó la relación de los contenidos de proteínas oxidadas/glutación total (índice de EO). Por otra parte, la administración de Fe incremento significativamente la actividad (desde las 4 semanas) y expresión de la iNOS hepática (8 y 12 semanas), como consecuencia del aumento en la actividad de unión de NF- $\kappa$ B a ADN (8, 10 y 12 semanas de Fe) asociada a la activación de la vía ERK (6 y 8 semanas de Fe). El tratamiento conjunto Fe + L-NAME redujo la condición de EO con una disminución de la activación de ERK y del factor transcripcional NF- $\kappa$ B. En los animales con SCFe el tratamiento con el inhibidor de la NOS produjo focos inflamatorios e hiperplasia de células de Kupffer, por lo cual se concluye que el \*NO constituye un factor hepatoprotector en la SCFe, a través de la activación de NF- $\kappa$ B que conduce a una mayor expresión de la enzima de supervivencia celular iNOS. Financiamiento: FONDECYT 1030499

#### MEDALLA DE HONOR HERMANN NIEMEYER

RECONSTRUCCIÓN METABÓLICA DE LA DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS AROMÁTICOS A PARTIR DE LA SECUENCIA GENÓMICA DE *Ralstonia eutropha* JMP4 (Metabolic reconstruction of aromatic compounds degradation from the genome sequence of *Ralstonia eutropha* JMP134). Pérez-Pantoja, D.<sup>1</sup>, de la Iglesia, R.<sup>1</sup>, Pieper, D.<sup>2</sup>, González, B.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile; <sup>2</sup>Division of Microbiology, GBF-German Research Centre for Biotechnology, Braunschweig, Alemania. *Ralstonia eutropha* JMP134 es una bacteria capaz de mineralizar clorofenoxiacetatos, clorobenzoatos y clorofenoles lo que la convierte en un excelente modelo de la degradación de compuestos cloroaromáticos. La secuencia genómica de *R. eutropha* JMP134 se encuentra disponible como resultado de una iniciativa conjunta entre nuestro laboratorio y el DOE Joint Genome Institute. Nuestro laboratorio realizó la reconstrucción metabólica de la degradación de compuestos aromáticos, correlacionando las habilidades catabólicas determinadas *in silico* con un completo estudio del rango de compuestos que permiten el crecimiento de esta cepa. Se observó una clara correlación entre las habilidades catabólicas encontradas *in silico* con aquellas determinadas *in vivo*. Al menos doce vías centrales de ruptura de anillos aromáticos fueron detectadas, varias de ellas codificadas por una doble dosis génica. También se encontró una amplia gama de reacciones periféricas que permiten canalizar una gran diversidad de compuestos aromáticos sustituidos hacia las vías centrales. Este trabajo confirmó la gran versatilidad metabólica de *R. eutropha* JMP134 e indica que la redundancia génica en funciones catabólicas juega un importante rol en su extraordinario potencial catabólico. Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1030493 e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada. D. Pérez-Pantoja es becario CONICYT y R. de la Iglesia es becario MECESUP.



## Biología Molecular y Biomedicina

CAMBIOS MORFOLÓGICOS, ACTIVIDAD DE CASPASA-3 Y DNA LADDER DEMUESTRAN FOTOINDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN CELULAS TUMORALES HUMANAS. (Morphological changes, caspase -3 activity and DNA ladder demonstrated apoptosis photoinduction in human tumoral cells). Pacheco, A.<sup>1</sup>, Becker, M.I.<sup>2</sup>, Edwards, A.M.<sup>1</sup> <sup>1</sup>Laboratorio de Química Biológica, Facultad de Química, P. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. <sup>2</sup>Biosonda Biotecnología S.A.

La terapia fotodinámica (PDT) es un nuevo tratamiento para el cáncer que emplea un sensibilizador fotoquímico y luz visible para inducir muerte celular. Los mecanismos por los cuales se induce muerte celular programada no están totalmente esclarecidos y dependen de muchos factores. En nuestro laboratorio se ha utilizado a la Riboflavina (RF), como fotosensibilizador. Con el fin de aumentar la incorporación de la RF a sistemas biológicos, se esterificaron los cuatro grupos OH de su cadena ribitol incrementando la hidrofobicidad con el largo de la cadena alquímica, obteniéndose ésteres de RF que mantienen las propiedades fotoquímicas y fotofísicas de la RF. Se evaluó el efecto citotóxico de la RF y sus ésteres (RTB y RTP) al ser irradiados con luz visible en células tumorales de las líneas HL-60 y HeLa, profundizando en el mecanismo por el cual el fotosensibilizador induce la muerte celular. Se determinó las condiciones experimentales que favorecieran la inducción de apoptosis, se observó cambios morfológicos característicos de la apoptosis y se demostró la actividad proteolítica para la caspasa 3. El efecto fue mayor en presencia del aminoácido Trp. Al realizar electroforesis en gel de agarosa para el DNA obtuvimos el patrón en escalera (ladder) característico de la muerte celular por apoptosis. Estos resultados plantean una posible aplicación de nuestros derivados favinicos en PDT induciendo apoptosis para minimizar el daño e inflamación al tejido sano. (Financiado por FONDECYT 1040667)

INMUNOGLOBULINAS UNIDAS CON ALTA ESPECIFICIDAD EN CAPA GERMINAL DE QUISTES HIDATÍDICOS BOVINOS. (High affinity binding of immunoglobulins to the germinal layer of bovine hydatid cysts) Paredes, R., Godoy, P., Jiménez, V. y Galanti, N. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. La Hidatidosis es causada por el platelminto *Echinococcus granulosus*, que genera quistes hidatídicos en herbívoros y el hombre. La capa germinal interna de los quistes genera protoescolices, formas infectivas para cánidos. Por razones aún desconocidas existen dos tipos de quistes: fértiles (capaces de producir protoescolices) e infértiles. Trabajos previos han demostrado que el hospedero intermediario responde con una respuesta inmune humoral contra el parásito; no se ha establecido si ésta respuesta ejerce un efecto sobre la fertilidad del quiste.

En este trabajo, se estudió la afinidad de las IgGs del hospedero bovino a la capa germinal del quiste, mediante extracción de proteínas con fuerza iónica creciente. Por electroforesis en geles no denaturantes y posterior Western-blot, se observó dos fracciones de IgG en capa germinal, una débilmente unida (se extrae con 0,154 M de NaCl) y otra fuertemente unida (no se extrae con 3 M de NaCl). Por columnas de afinidad de proteína G se purificaron las IgGs y se cuantificaron con respecto a las proteínas totales de capas germinales; se observó que en capa germinal infértil éstas representan el 40% y en capa germinal fértil, solo un 10%.

Estos resultados sugieren que la respuesta inmune humoral participaría en la determinación de la fertilidad de los quistes hidatídicos, por unión específica a receptores presentes en la capa germinal de los quistes.

FONDECYT N°1010817; APT N°403032 CONICYT y RTPD-Network.

LA EXPRESIÓN DEL GEN MRP2 ES REGULADA POR LA VÍA DE DESINTOXICACIÓN CELULAR DEPENDIENTE DE ARE-NRF2. (Mrp2 gene expression is regulated by the cellular detoxification pathway ARE-Nrf2). Vollrath, V., Iruetagoiena, M., Wielandt, A., Chianale, P. Dpto. de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Chile.

La desintoxicación hepática de endo y xenobióticos comprende tres etapas: Modificación (Fase I), Conjugación (Fase II) y Excreción (Fase III). Los aniones orgánicos conjugados con glutatión (GSH) son excretados en el polo canalicular del hepatocito por el transportador Mrp2. Los genes de biosíntesis de GSH, -glutamilcisteína sintetasa (-GCS), y genes de enzimas de Fase II, glutatión-S-transferasas (GST), son inducibles en su expresión. La transcripción de estos genes desintoxicadores es inducida por compuestos electrófilos y antioxidantes. Los promotores de estos genes poseen el elemento de respuesta antioxidante (ARE) que es activado por la unión con el factor de transcripción Nrf2. La regulación de los genes -GCS y GST por antioxidantes plantea la hipótesis que el gen Mrp2 es regulado por la misma vía ARE-Nrf2. Resultados: En el hígado de ratones alimentados con el antioxidante fenólico BHA, se observó activación transcripcional simultánea de los genes Mrp2, -GCS y GST-Ya. El promotor de Mrp2 de ratón fue clonado y secuenciado, identificándose dos secuencias tipo ARE (proximal-distal). Mediante transfección en células Hepa 1-6 con distintos fragmentos del promotor, se determinó que la región que contiene el ARE proximal es responsable de la expresión basal y la activación por xenobióticos. La sobre-expresión del factor de transcripción Nrf2 aumentó significativamente la actividad transcripcional de esta región. Mediante geles de retardo se determinó que el sitio ARE proximal es activo y une proteínas nucleares. Conclusión. La secuencia ARE proximal del promotor de Mrp2 regula la expresión constitutiva y la inducción mediada por xenobióticos. Ambas fases (II y III) son reguladas por la vía ARE-Nrf2.

PCR EN TIEMPO REAL PARA CUANTIFICAR CARGA TUMORAL EN NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS. (Real-Time PCR to Quantify Load Tumoral in Hematologic Neoplasias). Adonis, W.<sup>1</sup>, Castillo, D., Rojas, H., Suárez, D., Salas, G., Ramírez, M.<sup>2</sup> & Guzmán, L.<sup>1</sup> <sup>1</sup>Laboratorio Nacional y de Referencia de Inmunología. ISP, <sup>2</sup>Sección Inmunología, Hospital Sótero del Río.

El desarrollo del PCR en la amplificación de reordenamientos clonales de la cadena pesada de la inmunoglobulina (IgH), ha facilitado su detección en varias malignidades de tipo B. El propósito de este estudio, fue desarrollar un método estandarizado de PCR en tiempo real, para cuantificar carga tumoral, en pacientes con leucemia, y determinar células ocultas en pacientes con enfermedades residuales mínimas (ERM).

Para validar la sensibilidad del método, protocolos de PCR convencionales se adaptaron a tiempo real, utilizando SYBR Green. DNA purificado de diluciones seriadas de  $10^1$ - $10^5$  células de linfoma linfoblástico (LLA), en linfocitos normales, fueron amplificadas para los marcadores clonales de la IgH (FR1, FR2 y FR3). De los crossing point (Cp) obtenidos de gráficas de fluorescencia vs número de ciclo, de cada dilución, se obtuvieron 3 curvas estándar, con un límite de detección de 100 linfocitos clonales en  $10^5$  linfocitos normales, con un  $r=0.998$  (FR1),  $r=0.988$  (FR2),  $r=0.999$  (FR3). Esta metodología permitió cuantificar muestras de médula ósea (MO) y sangre periférica de 25 pacientes con desórdenes linfoproliferativo y leucemia en remisión completa.

El PCR en tiempo real resultó ser una técnica sensible para cuantificar células tumorales en pacientes con LLA y EMR, y en pacientes con sospecha clínica de recaída de la enfermedad, con diagnóstico dudoso de linfoma de tipo B. Por otro lado, la técnica estandarizada de PCR cuantitativo en tiempo real, podría simplificar el monitoreo en las evaluaciones terapéuticas de pacientes con malignidades de tipo B. Trabajo financiado por el Instituto de Salud Pública.

PRESENCIA DE MUTACIONES ESPAÑOLAS EN LOS GENES BRCA1 Y BRCA2 EN FAMILIAS CHILENAS CON CÁNCER DE MAMA Y/O OVARIO HEREDITARIO (Spanish mutations in BRCA1 and BRCA2 genes in Chilean families with hereditary breast and/or ovarian cancer) Torrealba, C., Fuentes, M<sup>1</sup>., Faundez, P<sup>1</sup>, Alvarez, M<sup>2</sup>., Carvallo, P<sup>1</sup>. Laboratorio Genética Molecular Humana, Depto de Biología Celular, Fac. de Ciencias Biológicas<sup>1</sup>, Fac. de Medicina, Centro de Cáncer<sup>2</sup>. Pontificia Universidad Católica de Chile.

En Chile, el cáncer de mama es la tercera causa de mortalidad por cáncer en mujeres entre 40 y 55 años. Se estima que entre el 5 y el 10% de estos casos de cáncer son de origen hereditario. Numerosos estudios han demostrado que las mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 confieren un alto riesgo al cáncer de mama y/u ovario hereditario, sin embargo el porcentaje de familias que presentan mutaciones en estos genes varía según el grupo poblacional. Además las mutaciones compartidas entre distintas poblaciones reflejan, frecuentemente, una historia de migraciones entre ellas. En este sentido el objetivo de este trabajo fue el de analizar la probable presencia de mutaciones descritas para familias españolas en los genes BRCA1 y BRCA2 en 41 pacientes chilenas con cáncer de mama y con antecedentes familiares. Se analizó la presencia de ocho mutaciones mediante digestión con enzimas de restricción, PCR con partidores específicos y/o secuenciación directa. Los resultados revelaron la presencia de la mutación E49X (señal de término en el codón 49) en el exón 3 del gen BRCA2 en dos de las familias analizadas. Esta mutación se suma a otras dos previamente encontradas en nuestro laboratorio, para otras 3 familias. En conjunto las 3 mutaciones españolas presentes en 5 familias chilenas, representan el 45% de las familias de nuestro estudio con mutación en estos genes. Este hecho reafirma el importante componente genético de origen español de nuestra población, y la relevancia de este estudio en el diagnóstico de mutaciones en el cáncer de mama hereditario (Fondecyt 1040779-1011076)

ANÁLISIS MOLECULAR DE LOS GENES MSH2 Y MLH1 EN PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO (Molecular analysis of MSH2 and MLH1 genes in patients with hereditary colorectal cancer). <sup>1</sup>Alvarez K., <sup>1</sup>Salinas M., <sup>2</sup>Fullerton D., <sup>3</sup>Wistuba I., <sup>2</sup>León F., <sup>2</sup>López F., <sup>1</sup>Carvallo P. <sup>1</sup>Depto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, <sup>2</sup>Depto. Cirugía Digestiva, <sup>3</sup>Depto de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. El cáncer colorrectal (CC) constituye la tercera causa de muerte en Chile, por cáncer digestivo. Este tipo de cáncer se presenta en forma hereditaria en el 20% de los casos. Entre las variantes hereditarias más importantes se encuentran la Poliposis Adenomatosa Familiar (FAP) y el Cáncer de Colón Hereditario No Poliposo (HNPCC). El HNPCC es causado por mutaciones en genes que codifican para enzimas reparadoras del DNA, entre ellos los genes MSH2 y MLH1. El gen MSH2, constituido de 16 exones, se ubica en el cromosoma 2p22-23, y el gen MLH1, de 19 exones, se localiza en el cromosoma 3p21-23. En este estudio se seleccionaron 5 pacientes HNPCC. El análisis inmunohistoquímico de las biopsias reveló la ausencia de la proteína MSH2 en dos de ellos, sugiriendo una probable mutación en este gen. Además, tres de estos pacientes presentaron inestabilidad microsatelital en el DNA, lo cual refleja la ausencia de una actividad reparadora. Para el análisis de mutaciones se amplificaron todos los exones de ambos genes por PCR y se estudió la presencia de mutaciones por la técnica de conformómeros de simple hebra y secuenciación directa. Se detectaron 3 cambios en la secuencia de DNA en tres pacientes, todos presentes en las regiones intrónicas de estos genes: IVS1+2T>C, IVS1+9C>G, en MSH2, y IVS15+3A>T en MLH1. El probable efecto de estas mutaciones sobre el splicing será analizado en el mRNA de linfocitos de estos pacientes. El diagnóstico molecular de cáncer de colon hereditario permite la prevención de la aparición del cáncer y la disminución de la mortalidad. FONDECYT # 1040827.

EFFECTOS DE LINFOCITOS T INFECTADOS CON HTLV-I SOBRE CÉLULAS NEURONALES. (Effects of HTLV-I-infected T lymphocytes on neural cells). García, A<sup>1</sup>, Ramírez, E<sup>2</sup>, Caviedes, P<sup>3</sup>, García, L<sup>1</sup>, Kettlun, AM<sup>1</sup>, Krause, B<sup>1</sup>, Collados, L<sup>1</sup>, Cartier, L<sup>4</sup>, Valenzuela, MA<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Depto Bioquímica-Biología Molecular, Fac Cs Químicas-Farmacéuticas, U Chile; <sup>2</sup>Depto Laboratorios de Salud, ISP; <sup>3</sup>Inst. Cs Biomédicas, Fac Medicina, U Chile; <sup>4</sup>Depto Cs Neurológicas, Fac Medicina, U Chile.

La Paraparesia Espástica Tropical (TSP/HAM), está asociada a la infección linfocitaria por HTLV-I, mostrando degeneración de los haces córticoespinales, lesionándose la vía motora en los segmentos lumbares y dorsales de la médula espinal en su zona distal lo que puede vincularse con un daño en el transporte axoplásmico. Los mecanismos patogénicos del virus sobre el SNC aún no han sido identificados.

En el LCR de los pacientes hay evidencias preliminares que sugieren que la proteína tau, necesaria para la formación de los microtúbulos, se encontraría más fosforilada, lo que podría explicarse porque una de las proteínas virales (Tax) activa a proteína quinasas e inhibe a la fosfatasa PP-2. Utilizando un sistema *in vitro* se determinó el efecto de: a) el co-cultivo de linfocitos infectados (MT2) con células neuronales de ratón M4b y H1b (derivadas de médula espinal de ratón e hipocampo, respectivamente), como control se usó células K562; b) el medio condicionado de los linfocitos MT2 sobre las líneas celulares M4b y H1b; c) las proteínas virales secretadas por el virus a través de una membrana permeable sobre las líneas celulares M4b y H1b; d) la adición de proteína viral gp46.

Se observaron los cambios morfológicos sobre las células y el grado de fosforilación sobre residuos de serina, indicando por primera vez que productos virales producen efectos bioquímicos sobre células neuronales. Sólo se ha descrito hasta ahora efectos de activación de cultivos de astrocitos.

Financiamiento: Proyecto ENL0310, DI, U. de Chile.

EFFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO EN LA INTERACCIÓN MOLECULAR Y FUNCIONAL ENTRE COREST Y HSP70" (Effect of the heat stress on the molecular and functional interaction between CoREST and Hsp70). Gómez, A. y Andrés M.E. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. CoREST es un co-represor transcripcional de genes neuronales en células no neuronales, que forma parte de un complejo remodelador de cromatina por medio de su interacción con desacetilasas de histonas de clase I (HDAC1/2) y componentes del complejo SWI/SNF. Esta interacción ocurre principalmente por medio de los dos dominios SANT que posee CoREST. Hemos demostrado la interacción de CoREST con Hsp/Hsc70 *in vitro* e *in vivo* y delimitamos la región de interacción al primer dominio SANT del co-represor. La sobreexpresión de la chaperona en células HEK-293 induce un aumento de la actividad represora de CoREST, sugiriendo que podría actuar como un regulador fisiológico de su actividad transcripcional. Dado que las chaperonas de 70kDa son claves en la respuesta celular al estrés, hemos analizado el efecto del estrés térmico en los niveles y localización subcelular de ambas proteínas. Bajo estas condiciones observamos mediante western-blot e inmunofluorescencia una redistribución de CoREST, aumentando los niveles citoplasmáticos de esta proteína, paralelo al aumento de la chaperona en núcleo y citoplasma. Estamos evaluando el efecto del estrés térmico sobre la actividad represora de CoREST. FONDECYT # 103049.

CÉLULAS DEL HOSPEDERO BOVINO ESTÁN PRESENTES EN CAPA GERMINAL DE QUISTES HIDATÍDICOS DE *Echinococcus granulosus* (Host bovine cells are present in the germinal layer of *E. granulosus* hydatid cysts) **Paredes R.**, Cabrera G., Ayala A., Cabezón C. y Galanti N. Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los quistes hidatídicos son estructuras parasitarias generadas en herbívoros y el hombre por el platelminto parásito *Echinococcus granulosus*. Presentan tres capas: externa o adventicia, media o laminar e interna o germinal. La capa germinal genera protoescolices, formas parasitarias infectivas para cánidos. Se acepta que células del hospedero no pueden atravesar la capa adventicia, impidiendo el efecto de la respuesta inmune celular en la generación de protoescolices.

Por análisis morfológico de la capa germinal y de cultivos primarios de esta estructura, hemos identificado células bovinas en ella. Adicionalmente, por PCR hemos encontrado secuencias conservadas de bovino en la capa germinal. Finalmente, por electroforesis bidimensional de proteínas de capa germinal y espectrometría de masa, detectamos proteínas bovinas en esta estructura parasitaria.

Nuestros resultados sugieren que la respuesta inmune celular del hospedero puede participar en la modulación de la formación de protoescolices en la capa germinal de los quistes hidatídicos. FONDECYT N°1010817; APT N°403032 CONICYT y RTPD-Network.

### Estructura y función de proteínas I

CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA AGMATINASA DE CEREBRO DE RATA. (Cloning and characterization of rat brain agmatinase) **Elena Uribe**, Silvia Enriquez, Monica Salas, Vasthi López y Nelson Carvajal. Depto. de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

La agmatinasa cataliza la hidrólisis de agmatina en putrescina y urea. La agmatina, producto de la descarboxilación de la arginina, es sintetizada y degradada enzimáticamente en cerebro, se une a algunos receptores, es almacenada en vesículas sinápticas, y es considerada como neurotransmisor.

Es escasa la información disponible acerca del metabolismo de la agmatina en mamíferos. Por ello, y dada la baja actividad que se detecta en el cerebro de rata (~100 nmoles de urea/h/mg de proteína), decidimos clonar la enzima y expresarla en *E. coli*. Mediante el análisis por hibridación de una genoteca de expresión de cerebro de rata, detectamos dos clones que expresaron una alta actividad agmatinasa (10  $\mu$ moles urea/h/mg de proteína). La proteína se expresó y purificó a homogeneidad, identificándose una banda de 58 KDa, que coincide con el deducido de la secuencia nucleotídica, y que es detectada por un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítipo de 6 histidinas, las que fueron adicionadas al extremo amino de la proteína para facilitar su purificación.

La enzima purificada tiene un pH óptimo de 9.0, una  $K_m$  de  $2 \pm 0.2$  mM para agmatina y requiere de iones metálicos, especialmente  $Mn^{2+}$ , para su actividad catalítica, características similares a las descritas para la enzima de *E. coli*. Contrariamente a lo esperado, la homología de secuencia aminoácídica con la agmatinasa de *E. coli* y la humana, es de alrededor de un 10%. Al respecto, hay que considerar que, a diferencia de nuestra preparación, la especie humana que ha sido clonada por otros dos grupos independientes, prácticamente no presenta actividad enzimática.

Proyecto Fondecyt 2990039.

RESVERATROL BLOQUEA LA ACTIVIDAD DE GLUT1 POR UNIÓN AL SITIO PARA D-GLUCOSA EN LA CARA EXOFACIAL DEL TRANSPORTADOR (Resveratrol blocks Glut1 activity by binding to the D-glucose site on the transporter exofacial face). **Oyarzún, I.** y Reyes, A. M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia.

Resveratrol (*trans* 3,5,4'-trihidroxiestilbeno), un polifenol natural abundante en uvas y vino y que exhibe numerosos efectos biológicos, inhibe en forma competitiva la captación de D-glucosa y de vitamina C a través de Glut1, en células sanguíneas HL60 y U937 (Park, J.B. *J. Nat. Prod.* 64, 381-384, 2001). Glut1 es el principal representante de la familia de proteínas integrales de membrana que facilita la entrada de hexosas y vitamina C oxidada en células animales. En este trabajo nos interesó analizar en mayor detalle cómo este compuesto interactúa con el transportador Glut1. Por ello, realizamos ensayos cinéticos de salida de D-glucosa en eritrocitos humanos y determinaciones de la perturbación de la fluorescencia intrínseca de Glut1 y de desplazamiento de citocalasina B en membranas aisladas de eritrocitos. Resveratrol desplazó a la citocalasina B de su sitio de unión específico en Glut1 y protegió a la proteína del apagamiento de fluorescencia por yoduro, en forma análoga a los efectos de D-Glucosa. Ensayos cinéticos de transporte en condiciones infinito-cis (ensayos de Sen-Widdas), muestran que resveratrol inhibe eficientemente la salida de D-glucosa ( $K_i$  9  $\mu$ M) y además indican que este polifenol decrece la afinidad de D-glucosa por su sitio de unión externo. Estos datos son compatibles con la unión a Glut1 de resveratrol en un sitio para D-glucosa, accesible externamente, como hemos encontrado para otros polifenoles naturales.

(Financiado por Proyecto FONDECYT 1020908)

RECONSTITUCIÓN DE UN ENSAYO DE TRANSCRIPCIÓN IN VITRO CON FACTORES RECOMBINANTES Y PROTEÍNAS PURIFICADAS DE *Schizosaccharomyces pombe* (A reconstituted transcription assay with recombinant factors and purified proteins from *S. pombe*). **Bernal G.**, Tamayo E, Maldonado, E. Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Fondecyt 1010824.

El estudio de la transcripción por RNA polimerasa II en eucariontes requiere de sistemas altamente purificados. *S. pombe* es un eucarionte unicelular cuyos procesos biológicos son muy parecidos a los eucariontes superiores. Además, la secuencia de su genoma ha sido determinada y es el eucarionte con menor número de genes encontrados a la fecha. *S. pombe* es además un excelente modelo en el cual se pueden aplicar métodos genéticos. Con este fin nosotros hemos desarrollado un sistema de transcripción in vitro con factores recombinantes y proteínas altamente purificadas. Los factores de transcripción de *S. pombe* fueron clonados usando PCR utilizando las secuencias publicadas y los productos amplificados fueron insertados en vectores de expresión. Nosotros clonamos TFIIB, TFIIF, TFIIE y TBP, y las proteínas recombinantes fueron purificadas a homogeneidad. Además purificamos por afinidad RNAPII y TFIIF de extractos celulares de *S. pombe*. Los resultados obtenidos nos permiten concluir que TFIIB, TFIIF, TFIIE, TFIIF, TBP y RNAPII son todos necesarios para la transcripción en moldes de DNA relajados. Sin embargo, en moldes de ADN superenrollados TFIIF no es absolutamente requerido para transcripción.

PREDICIÓN DE LA ESTRUCTURA 3D DEL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT1 POR HOMOLOGÍA EVOLUTIVA. (Predicting the 3D structure of the glucose transporter Glut1 by a novel evolutionary homology strategy). Zuñiga, F.A., <sup>1</sup>Ormazabal, V., <sup>2</sup>Salas, A., <sup>2</sup>Fischberg, J. & <sup>1</sup>Vera, J.C. <sup>1</sup>Depto. Fisiopatol., Fac. Cs Biol., Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Dept. Ophthalmol., Columbia University, NY, USA. GLUT1 es un miembro de la superfamilia de transportadores facilitativos (GLUT/SLC2A) que ha sido extensivamente estudiado. En ausencia de información estructural directa derivada de cristales, los datos de estructura-función de que se dispone para Glut1 lo convierten en un excelente candidato para la construcción de modelos tridimensionales. Recientemente, las estructuras del transportador glicerol 3-fosfato y del co-transportador protón/lactosa, ambos desde *E. Coli*, han sido resueltas por cristalografía a 3,3 Å y 3,5 Å de resolución, respectivamente. Aunque ambos transportadores poseen distintos mecanismos de transporte, ellos comparten similitudes estructurales en el empaquetamiento de sus 12 hélices transmembrana. Hemos generado un modelo 3D del transportador de glucosa Glut1 utilizando una estrategia de homología de dos pasos: utilizamos la estructura de GltT como modelo de partida seguido por el uso de homología evolutiva usando la secuencia del transportador de glucosa 6-fosfato humano. Esta estrategia nos permitió corregir y asignar correctamente algunos segmentos de hélices transmembrana que no fueron predichas adecuadamente por el método tradicional de homología simple. La estructura de Glut1 así originada es consistente con la mayoría de la información bioquímica y de mutagénesis de que se dispone y provee una base estructural sobre la cual analizar el mecanismo de migración del sustrato y flexibilidad de la proteína, así como la identidad de los sitios de unión de glucosa y de varios inhibidores.

Beca Conicyt de Doctorado, Proyecto Fondecyt 1020451 y DIUC 03-C4-01.

PREDICCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS INTERACCIONES LONGITUDINALES Y LATERALES EN LOS POLÍMEROS DE FtsZ (Prediction and characterization of longitudinal and lateral interactions in FtsZ polymers). Garcés, A., Arbidua, J. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. FtsZ, proteína de la división celular bacteriana, polimeriza para formar el anillo Z en el sitio de septación. La polimerización *in vitro* da origen a protofilamentos que interactúan y forman dobles filamentos, que se piensa son la unidad básica para la inducción de hojas por  $Ca^{+2}$  y otros policaciones. Las interacciones longitudinales en el protofilamento han sido caracterizadas y poco se sabe sobre las interacciones laterales entre ellos. El objetivo del trabajo fue conocer las características de los aminoácidos que participan en ambas interacciones. En la caracterización de la interfase longitudinal se utilizó modelaje comparativo para construir la estructura tridimensional del dímero de FtsZ a partir de la estructura de tubulina en el microtúbulo y la estructura cristalina de FtsZ de *M. jannaschii*. Para caracterizar las interacciones laterales, se utilizó el método de "docking" proteína-proteína con los dímeros modelados. Se generaron filtros biológicos confiables para proponer una región de interfase y discriminar entre los complejos construidos por el programa. Se hizo un análisis de mutaciones correlacionadas a partir de un alineamiento múltiple de 470 secuencias con más de 30% de identidad y se encontró que pares de residuos distantes mutaban simultáneamente. Se seleccionaron residuos contiguos y conservados en un 50% con "evolutionary tracing". Se encontró una muy buena correlación entre el efecto de las mutaciones en EcFtsZ R85A, R174D y E250A sobre las interfases predichas por bioinformática. El carácter transitorio de la interacción lateral de FtsZ se estableció por la participación de dos grupos de residuos, en su mayoría cargados, relacionados evolutivamente y pertenecientes a loops y hélices  $\alpha$ . Se mostrarán los modelos tetraméricos donde se combinan las conformaciones FtsZ-GTP y FtsZ-GDP que permitirán construir un modelo matemático de polimerización a partir de las constantes de afinidad determinadas por el "docking" molecular. Financiado por el proyecto FONDECYT 1010848

EN CONTRA DEL MODELO ESTABLECIDO: FBPASA SE EXPRESA EN CÉLULAS  $\beta$  PANCREÁTICAS. (Against of a current notion: FBPase is expressed in pancreatic beta cells.) Bertinat, R., Gatica R., Montero F., Yáñez, A.J. y Slebe, J.C. *Instituto de Bioquímica Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.*

Las células  $\beta$  pancreáticas secretan insulina en respuesta a múltiples señales metabólicas. Entre ellas destacan metabolitos gluconeogénicos que estimulan la exocitosis de insulina mediante un mecanismo desconocido. La fructosa 1,6-bisfosfatasa (FBPasa) es una enzima gluconeogénica reconocida como una enzima reguladora de la homeostasis de la glucosa. Se ha propuesto que esta enzima y otras enzimas gluconeogénicas como PEPCK y glucosa 6-fosfatasa, no se expresan en las células  $\beta$ . Estos resultados permitieron establecer que gluconeogenesis y el reciclaje de metabolitos no ocurre en páncreas. Esta noción facilitó el análisis metabólico de esta célula. Sorprendentemente, nuestros resultados demuestran por primera vez que FBPasa se expresa en el páncreas de rata. El análisis inmunohistoquímico demostró que FBPasa se expresa en los islotes de Langerhans de rata desde el primer día de vida de la rata y que colocaliza con células productoras de insulina. Además, ensayos enzimáticos demuestran que la enzima no sólo es activa, sino que también responde a los mismos efectores que las FBPasas en hígado y riñón. En ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina observamos la destrucción de las células productoras de insulina y además la desaparición de células que expresan FBPasa. En conjunto nuestros resultados permiten concluir que FBPasa se expresa funcionalmente en las células  $\beta$  pancreáticas y que podría desempeñar un papel importante en la señalización metabólica que induce la secreción de insulina en estas células (FONDECYT 1010720; DID UACH 200302).

METILXANTINAS Y D-GLUCOSA SE UNEN A SITIOS DISTINTOS EN EL TRANSPORTADOR DE HEXOSAS GLUT1 (Methylxanthines and Dglucose bind to different sites on the hexose transporter GLUT1) Ojeda, P. y Reyes, A. M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Las metilxantinas son compuestos naturales reconocidos como inhibidores de fosfodiesterasas. Las metilxantinas son además capaces de inhibir la actividad funcional de GLUT1, el principal representante de la familia de transportadores de hexosas y encargado del transporte basal de glucosa en la mayoría de los tejidos. La inhibición ocurre mediante la unión directa de las metilxantinas al transportador. En la presente comunicación probamos la habilidad de las metilxantinas cafeína, teofilina y pentoxifilina de interactuar con el sitio de unión externo para D-glucosa en GLUT1 mediante ensayos de transporte usando eritrocitos humanos. En condiciones trans-cero de salida, midiendo variaciones en la dispersión de luz, encontramos que pentoxifilina ( $K_i$  1 mM), cafeína ( $K_i$  5 mM) y teofilina ( $K_i$  5 mM) bloquean eficientemente la salida de D-glucosa. Ensayos de competencia para la inhibición del transporte muestran que estas metilxantinas probablemente se unen a un sitio común pero que es distinto al sitio de unión de D-glucosa. Sin embargo, en ensayos de salida en condiciones infinito-cis (ensayos de Sen-Widdas) encontramos que pentoxifilina desplaza a D-glucosa en el sitio exofacial de GLUT1, en claro contraste con cafeína y teofilina que no muestran este efecto. Estos resultados proveen firme evidencia que estas metilxantinas interactúan de distinta forma con la superficie exofacial del transportador GLUT1, aun cuando todas ellas bloquean su actividad funcional uniéndose a un sitio distinto que D-glucosa (Financiado por proyecto FONDECYT 1020908).

ROL DEL POTENCIAL ELECTROSTÁTICO EN LA CONDUCTANCIA DE CANALES DE  $K^+$  hSlo. (Electrostatic Potential Role on the Conductance of hSlo  $K^+$  Channel). González-Niño, F.\*; González, W.\*; Brauchi, S.†; Orio, P.†; Zaelzer, C.†; Riadi, G.\*; Carvallo, I.† y Latorre, R.†. Centro de Bioinformática, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca. †Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo Prat 514, Valdivia.

Los canales son capaces conducir selectivamente iones a una velocidad cercana al límite permitido por la difusión. La familia de canales de  $K^+$  presenta un motivo estructural (TVGYG) altamente conservado, al que se le atribuye la capacidad de seleccionar iones de  $K^+$  por sobre otros iones. Es interesante el hecho de que, a pesar de tener un filtro de selectividad muy conservado, los canales de  $K^+$  presenten conductancias diferentes (5-250 pS), pero a su vez, conservan sus propiedades de selectividad. Esta interrogante será abordada en este trabajo a través de un estudio de simulación molecular, mutagénesis sitio dirigida y electrofisiología. Sobre la base de modelos moleculares de los canales de  $K^+$  hSlo y Shaker, se observa que el número de aminoácidos (aa) aniónicos es directamente proporcional a su conductancia. Dichos aa aniónicos en hSlo generan un potencial electrostático negativo mayor que el observado en Shaker en esa región, al cual atribuimos un aumento en la concentración local de iones de  $K^+$  en el vestíbulo extracelular, lo que debería disminuir el trabajo energético requerido para acceder al filtro de selectividad. Para comprobar esta hipótesis se realizó una serie mutagénesis sitio dirigida de Glu/Gln y Asp/Asn en la vestibulo extracelular, con el objetivo de analizar el efecto de estos residuos en la conductancia de iones de  $K^+$ . Se midió la conductancia a cada una de estas mutantes utilizando la técnica de patch-clamp. Estas conductancias fueron contrastadas con cálculos de potenciales electrostáticos. Nuestros resultados demuestran que el potencial electrostático juega un papel crítico en la modulación de la conductancia de los canales de  $K^+$ . Agradecimientos: FONDECYT 1040254 (FG) y 1030830 (RL).

### Bioquímica y Biología Molecular Vegetal

CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA TRANSPORTADOR DE ELECTRONES ASOCIADO A MONOOXIGENASAS DE GIBERELINAS EN MUTANTES DE *Gibberella fujikuroi* CARENTES DE P450 REDUCTASA. (Characterization of the electron transport system associated to gibberellin monooxygenases in P450 reductase deficient mutants from *Gibberella fujikuroi*.) Troncoso, C., Bocca, P., Cárcamo, J. y Rojas, M.C. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En el hongo *Gibberella fujikuroi*, la síntesis de giberelinas utiliza cuatro monooxigenasas (MO) P450 que catalizan 11 de las 15 etapas de la secuencia metabólica. Su función catalítica depende de la interacción con proteínas que transportan electrones desde nucleótidos de piridina. La citocromo P450 reductasa (CPR) codificada por el gen *cpr* es la principal proteína transportadora que aporta electrones a las cuatro MO de giberelinas desde el NADPH. Existe además un segundo sistema transportador de electrones en el hongo puesto que mutantes carentes de CPR producen giberelinas aunque en baja cantidad. Demostramos en las mutantes que este sistema transportador es específico para NADH a diferencia de la P450 reductasa. Las actividades de 7-oxidasa y de  $\beta$ -hidroxilasa son activadas por FAD lo que evidencia la participación de una flavoproteína en el complejo activo de P450-1. Todas las reacciones de la síntesis de giberelinas en las mutantes están asociadas a los microsomas y son inhibidas por ferricianuro y citocromo c lo que sugiere la participación de un citocromo en el transporte de los electrones desde el NADH. La velocidad de la reacción catalizada por P450-1 es menor en las mutantes que en la cepa silvestre aunque mayor que la de P450-2, que utiliza sus productos

En conjunto estos resultados indican que el segundo sistema transportador de electrones asociado a las MO de giberelinas en *Gibberella fujikuroi* correspondería al sistema citocromo b5: b5 reductasa. Trabajo financiado por FONDECYT 1020140

REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE SEMILLAS COMO CONSECUENCIA DEL SILENCIAMIENTO DEL GEN *SDH2-3* EN *Arabidopsis thaliana* (A reduced seed set as consequence of *SDH2-3* gene silencing in *Arabidopsis thaliana*). León, G. y Jordana, X. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El genoma nuclear de la planta *Arabidopsis thaliana* contiene tres genes que codifican para la subunidad hierro-azufre del complejo II de la cadena transportadora de electrones mitocondrial (succinato deshidrogenasa). Dos de estos genes (*SDH2-1* y *SDH2-2*) presentan patrones de expresión similares, y codifican proteínas con un 96% de identidad de secuencia. En contraste, el tercer gen (*SDH2-3*) codifica una proteína 67% idéntica a *SDH2-1*, y su transcrito no es detectado mediante ensayos de *northern* en tejidos adultos de *A. thaliana*. Sin embargo, se ha logrado detectar una acumulación importante del transcrito de este gen en semillas. Para evaluar si el gen *SDH2-3* es o no importante para el desarrollo de *A. thaliana*, se generaron plantas transgénicas silenciadas en este gen. Para esto, se utilizó una construcción que expresa la región 5' no traducida y el primer exón de *SDH2-3* como un repetido invertido, separados por un intrón, bajo el control del promotor CaMV35S (promotor fuerte). Se seleccionaron 5 plantas T1 (resistentes a kanamicina) y se evaluaron diversos aspectos de su desarrollo. Las 5 líneas T1 presentan una disminución importante en la producción de semillas y la aparición de semillas alteradas. Experimentos preliminares muestran que el fenotipo está asociado al gameto femenino, y que las plantas de la generación T2 presentan el mismo fenotipo, incluyendo algunas alteraciones en el desarrollo global de la flor. Estos experimentos indicarían que el gen *SDH2-3* sería importante para el desarrollo reproductivo en *A. thaliana*. Financiado por FONDECYT 1020930 y Beca Apoyo Tesis Doctoral CONICYT 2003.

EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS INDUCIDAS TEMPRANAMENTE POR LUZ (ELIP) EN *Deschampsia antarctica* (Expression of early light inducible proteins (ELIP) in *Deschampsia antarctica*). García, K. A.<sup>1,3</sup>, Gidekel, M.<sup>1,3</sup>, Corcuera, L.<sup>2</sup>, Bravo, L.<sup>2</sup>, Gutiérrez, A.<sup>1</sup>. Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular Vegetal, Instituto de Agroindustrias, Universidad de la Frontera. <sup>2</sup>Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. <sup>3</sup>Vitrogen, S.A.

Patrocinio: Ana Gutiérrez Moraga.

*Deschampsia antarctica*, la única gramínea que ha logrado colonizar la Antártica Marítima, se encuentra frecuentemente expuesta a condiciones climáticas que favorecen la formación de especies reactivas de oxígeno (EROS) y el proceso de fotoinhibición. Estas situaciones pueden provocar un severo daño a las estructuras celulares. Se piensa que las proteínas inducidas tempranamente por luz (ELIP) tienen un rol protector en plantas sometidas a alta intensidad lumínica combinada con baja temperatura.

Plantas de *D. antarctica*, control (15°C) y aclimatadas al frío (4°C) sometidas a alta intensidad lumínica (1500  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y baja (4°C) o alta (15°C) temperatura mostraron la inducción de un transcrito correspondiente a ELIP de 1,2 kb aproximadamente. La inducción fue mayor en plantas aclimatadas al frío por 21 días que en plantas control. Los datos de fluorescencia muestran que *D. antarctica* no se fotoinhibe significativamente al ser sometida a alta intensidad lumínica y mantiene valores altos de apagamiento fotoquímico (qP), además de no variar significativamente su tasa de transporte de electrones entre 100 y 1500  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  de luz. Esto significa que esta planta es altamente resistente a la fotoinhibición. Se discutirá el papel de las ELIP en este proceso.

Proyecto INACH 03-01, DIUFRO 120418 FONDEF D031-1079

PROPIEDADES CATALÍTICAS DE LA C20 OXIDASA DE GIBBERELINAS DE *Gibberella fujikuroi* EN AUSENCIA DE LA P450 REDUCTASA. (Catalytic properties of the gibberellin C20 oxidase from *Gibberella fujikuroi* in the absence of P450 reductase). Bocca, P., Troncoso, C. y M.C.Rojas. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Casilla 653 Santiago, Chile

La oxidación del carbono 20 de las giberelinas es catalizada por una monooxigenasa P450 (P450-2) en el hongo *Gibberella fujikuroi*. El complejo activo incluye a la citocromo P450 reductasa (CPR), la que transporta electrones desde el NADPH durante la oxidación secuencial del metilo C20 hasta CO<sub>2</sub>. Esta reacción genera la función lactónica esencial para la actividad de estas moléculas como fitohormonas y alternativamente el C20 es oxidado hasta carboxilato para dar un producto sin actividad biológica. No se acumulan intermediarios C20 alcohol ni aldehído. Demostramos, en mutantes de *Gibberella* carentes de CPR, que la oxidasa del C20 cambia sus propiedades catalíticas: no se forma el producto lactónico a partir del sustrato <sup>14</sup>C-GA<sub>12</sub> en las mutantes y los productos finales son el alcohol (<sup>14</sup>C-GA<sub>15</sub>) y el aldehído (<sup>14</sup>C-GA<sub>24</sub>). La giberelina <sup>14</sup>C-GA<sub>14</sub>, precursora de las giberelinas 3β-hidroxiadas, no es utilizada por la C20 oxidasa en ausencia de la reductasa. La velocidad de oxidación de C20 es significativamente menor en las mutantes que en la cepa silvestre. Esta reacción correspondería a la etapa limitante de la síntesis de giberelinas en ausencia de la reductasa. La complementación con el gen *cpr* de *Gibberella fujikuroi* o de *Aspergillus niger* restauró completamente la capacidad de síntesis de GAs lactónicas. La actividad catalítica de P450-2 depende de la interacción con las dos proteínas transportadoras asociadas a monooxigenasas P450 en *Gibberella fujikuroi* (CPR y el sistema *citb5: citb5* reductasa).

Trabajo financiado por FONDECYT (proyecto 1020140)

CARACTERIZACIÓN DEL PROMOTOR DEL GEN *SDH2-3* DURANTE LA EMBRIOGENESIS EN *Arabidopsis thaliana* (Gene *SDH2-3* promoter characterization during embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*). Roschztardt, H., Gómez, I. y Jordana, X. Laboratorio de Bioquímica, Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En *Arabidopsis thaliana* existen tres genes nucleares que codifican para la subunidad hierro azufre (*SDH2-1*, *SDH2-2* y *SDH2-3*) del complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial. Previamente nuestro grupo determinó, mediante RT-PCR y fusiones con el gen reportero GUS, que el gen *SDH2-3* se expresa específicamente durante el desarrollo de las semillas. En este trabajo se presentan detalles sobre la caracterización del promotor *SDH2-3*. Además de su análisis *in silico*, se construyeron mutantes del promotor fusionados a GUS y se analizó la actividad GUS en semillas de plantas transgénicas. Por otro lado se caracterizó la expresión de *SDH2-3* en plantas mutantes deficientes en factores de transcripción que se sabe regulan la expresión génica durante la embriogénesis, tales como ABI3 y ABI5. Nuestros resultados muestran que la expresión de *SDH2-3* depende de una región de 150 pb de su promotor (-220 a -65) y de la presencia de ABI3.

Financiado por FONDECYT 1020930 y Beca Apoyo Tesis 2003

CARACTERIZACIÓN DE GENES DE RESPUESTA A FRÍO Y A UV DE *Deschampsia antarctica* desv. (Characterization of responsive genes to cold and UV from *Deschampsia antarctica* Desv.). Dinamarca, J., Gidekel, M.<sup>1,3</sup>, Bravo, L. A.<sup>2</sup> and Gutiérrez, A.<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera.<sup>2</sup> Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.<sup>3</sup> Vitrogen S.A. Patrocinio: Ana Gutiérrez Moraga *Deschampsia antarctica* Desv. es la única gramínea que ha logrado colonizar las condiciones extremas de la Península Antártica y constituye una fuente potencial de genes asociados con tolerancia al congelamiento y radiación UV. Análisis subtractivo de cDNAs entre *Deschampsia antarctica* creciendo en condiciones de laboratorio y condiciones naturales en la Antártica mostraron 353 cDNAs específicamente inducidos en la Antártica y 6 cDNAs reprimidos en estas condiciones. Por otro lado, hemos evaluado los cambios en la expresión génica en respuesta a la radiación por luz ultravioleta (UV) por análisis subtractivos entre *D. antarctica* creciendo en condiciones normales en la Antártica y plantas creciendo bajo un filtro UV en la Antártica, lo cual mostró 18 cDNAs específicamente inducidos con exposición a UV y 63 cDNAs fueron reprimidos. Por análisis de Northern blot hemos comprobado que algunos transcritos fueron inducidos por frío y exposición a UV. Mediante análisis bioinformático se realizó una clasificación de estos genes de acuerdo a su homología y asociado a su posible función en *Deschampsia antarctica*. El significado de estos resultados durante el crecimiento de *D. antarctica* en el verano antártico será discutido.

Proyecto INACH 03-01, DIUFRO 120418 y FONDEF D03I-1079

CARACTERIZACIÓN EN MONOCOTILEDÓNEAS DE UN GEN DE LA SUBUNIDAD HIERRO-AZUFRE DE LA SUCCINATO DESHIDROGENASA QUE SE EXPRESA EN SEMILLAS. (Characterization in monocots of a seed-expressed gene for the succinate dehydrogenase iron-sulphur subunit). Clément, P. y Jordana, X. Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En *A. thaliana* se han descrito tres genes para la subunidad hierro-azufre del complejo II de la cadena respiratoria (*SDH2*). Dos de estos tres genes son muy parecidos entre sí y tienen patrones de expresión similares (*SDH2-1* y *SDH2-2*). En maíz y arroz se ha descrito un gen homólogo a éstos, el que presenta un patrón de expresión similar. El tercer gen (*SDH2-3*) de *A. thaliana* presenta menos homología y se expresa específicamente durante la embriogénesis. Para determinar si la existencia de un gen *SDH2* de expresión específica en embriogénesis es general en angiospermas, se buscó al gen homólogo de *SDH2-3* en monocotiledóneas. Se identificaron en las bases de datos ESTs homólogos de cebada, trigo y arroz. Utilizando partidores diseñados en base a estas secuencias fue posible amplificar desde ADN genómico de maíz y trigo un fragmento del tamaño esperado. Se encuentra en curso la fase final del "screening" de una genoteca de maíz para obtener la secuencia del gen *SDH2-3* en esta especie. Por otra parte, experimentos tipo Northern indican que este gen se expresa durante la embriogénesis en maíz, en semillas secas de trigo y maíz, y que su expresión disminuye durante la germinación. Estos resultados son similares a los obtenidos para *SDH2-3* de *Arabidopsis* y muestran que en plantas superiores existe un gen de la subunidad hierro-azufre del complejo II que se expresa específicamente durante el desarrollo de las semillas. Financiado por FONDECYT N°3010040 y N°1020930.

## Expresión Génica

EFFECTO DE LA FUENTE DE CARBONO SOBRE LA ACTIVIDAD DE UN GEN REPORTERO BAJO EL CONTROL DE UN FRAGMENTO PROMOTOR DE LA ENDOXILANASA B (Effect of the carbon source on the activity of a reporter gene under the endoxylanase B promoter) Díaz, J., Santis, P., Larrondo, L., Eyzaguirre, J. y Bull, P. Lab. Bioquímica. P. Universidad Católica de Chile

El hongo *P. purpurogenum* secreta al medio enzimas que degradan xilano. Hemos encontrado en promotores de genes de xilanasas, sitios de unión a dos factores de transcripción: CreA y XlnR. CreA reprime la expresión de xilanasas en presencia de glucosa y XlnR induce la expresión de estos genes cuando existe xilano como única fuente de carbono en el medio. Al comparar entre los promotores de genes xilanolíticos, el de la endoxilanasasa B (*xynB*) de *P. purpurogenum* contiene 4 cajas CreA y el inusual número de 8 cajas XlnR. En este trabajo estudiamos la participación de estos sitios presentes en el promotor de *xynB* sobre la expresión de un gen reportero galactosidasa (*gal*) en un sistema heterólogo, *A. nidulans*.

Al cultivar el clon en xilano a diferentes tiempos, la máxima actividad *gal* se logró a las 25 hrs y se mantuvo estable hasta 4 días. Al incubar en diferentes fuentes de carbono: xilano, xilosa, manosa, fructosa y glucosa, se observó que en xilano hay una mayor actividad *gal* en el tiempo. Por otro lado, se produjo un aumento de la actividad *gal*, que depende de la presencia de cajas XlnR y no depende de la presencia de cajas CreA en el promotor. Finalmente, si se cultiva en glucosa se observa actividad *gal*, pero en mucho menor proporción que cuando se cultiva con xilano.

Financiado por: Fondecyt Líneas Complementarias 8990004 y DIPUC 2761-018.

ANÁLISIS DE LA REGIÓN PROMOTORA DE GENES LIGNINOLÍTICOS DE *Ceriporiopsis subvermispota* (Analysis of the promoter region of ligninolytic genes from *Ceriporiopsis subvermispota*) Polanco, R.<sup>1</sup>, Lobos, S.<sup>2</sup> y Vicuña, R.<sup>1</sup> Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile<sup>1</sup>, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile<sup>2</sup>.

El sistema ligninolítico de *C. subvermispota* está compuesto por las enzimas manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa (Lcs). Sus genes codificantes, *Cs-mnp2b* y *Cs-lcs1*, son regulados transcripcionalmente por Mn<sup>2+</sup> y Cu<sup>2+</sup>, respectivamente. Al analizar sus regiones promotoras encontramos secuencias tipo MRE y un posible sitio ACE sólo en la región 5' de *Cs-lcs1*. Mediante geles de retardo y footprinting se logró determinar que las secuencias MRE y ACE son reconocidas específicamente por proteínas provenientes de extractos nucleares del hongo. Utilizando una estrategia genética, basada en la información del proyecto genoma de *Phanerochaete chrysosporium*, se aislaron dos nuevos genes que codifican para factores de transcripción de la familia ACE1, *Pc-ace1* y *Cs-ace1*, de *P. chrysosporium* y *C. subvermispota*, respectivamente con una identidad cercana al 85% entre ellos. El cDNA de *Pc-ace1* fue clonado en un vector de expresión y permitió complementar una cepa de levadura carente del factor de transcripción ACE1, demostrando que *Pc-ace1* codifica para un factor de transcripción funcional, siendo el primero de esta familia descrito en hongos basidiomicetes. Hasta ahora el cDNA de *Cs-ace1* no ha podido ser aislado pero su alta identidad con *Pc-ace1* sugiere que éste también codificaría para un factor transcripcional del tipo ACE1 funcional. Financiado por FONDECYT 1030495 y MIFAB.

EFFECTO DE COMPUESTOS OXIDANTES SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES LIGNINOLÍTICOS EN *Ceriporiopsis subvermispota*. (Effect of oxidants on the expression of ligninolytic genes in *Ceriporiopsis subvermispota*). Amoroso A., Vicuña R. Departamento de Genética molecular y Microbiología. Facultad de ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Dr. Rafael Vicuña.

El basidiomicete *Ceriporiopsis subvermispota* es un hongo de pudrición blanca con alta eficiencia y selectividad para degradar lignina. Su maquinaria ligninolítica está constituida por manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa (fenol oxidasa), además de un sistema productor de peróxido de hidrógeno extracelular. Lo anterior, da cuenta de un proceso altamente oxidativo. Si bien los mecanismos de regulación de la ligninólisis en los basidiomicetes son prácticamente desconocidos, se ha descrito en algunos de estos hongos que el estrés oxidativo, como el causado por la presencia de ciertos compuestos aromáticos, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> es acompañado por un aumento del mRNA de lacasa y de MnP, además de un aumento en la actividad enzimática de MnP. Aunque en cultivos de *C. subvermispota* tratados con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no se detectaron aumentos en la actividad enzimática ni en los niveles de RNA de lacasa y MnP, si se detectó un claro aumento en la acumulación de transcrito y en la actividad enzimática de lacasa en cultivos tratados con quinonas, las cuales son capaces de producir especies reactivas de oxígeno. Además se determinó que en estos cultivos se ven afectados los niveles redox del hongo.

Financiado por: FONDECYT 1030495 y MIFAB

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA MEDIANTE DISRUPCIÓN DE GENES DE BIOSÍNTESIS DE CAROTENOIDES EN *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Genetic transformation of *X. dendrorhous* by disruption of carotenoid biosynthesis genes.) Niklitschek, M.; Barahona, S.; Retamales, P.; Lozano, C.; Sepúlveda, D.; Alcaino, J.; Wozniac, A.; Baeza, M. y Cifuentes, V. Dpto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

*Xanthophyllomyces dendrorhous* es una levadura carotenogénica de alto interés biotecnológico para su uso en la industria acuícola y farmacéutica. Sin embargo, el conocimiento actual de los aspectos genéticos de esta levadura es limitado, debido a su difícil manipulación y a la falta de vectores para transformación. Por este motivo, en nuestro laboratorio hemos diseñado un sistema de transformación genética de *X. dendrorhous* utilizando un marcador de resistencia a geneticina (G-418) bajo la acción de un promotor fuerte. Para ello, hemos clonado y secuenciado un fragmento BamHI de 9,8 Kb que posee el gen que codifica para el factor de elongación de la traducción *ef-1 $\alpha$* , e identificado su región promotora en una zona de 400 pb. Mediante PCR se ha puesto al gen de resistencia a geneticina bajo el control del promotor *ef-1 $\alpha$*  y la construcción resultante se ha insertado en un sitio EcoRV del gen *cr1* que codifica para la enzima fitoeno desaturasa, provocando una delección de 1,2 Kb. Con el vector resultante se ha transformado la cepa silvestre de *X. dendrorhous*, seleccionando los transformantes resistentes a geneticina. Además, ya que la enzima fitoeno desaturasa cataliza el paso desde fitoeno (incoloro) a licopeno (rojo), éste método también permite seleccionar los transformantes por un cambio de color en la levadura de rojo a rosado pálido o blanco.

Financiamiento: Fondecyt N° 1040450.

"ESTUDIO DEL PROMOTOR COMPARTIDO DE LOS GENES *fet3* Y *ftt1* DEL BASIDIOMICETE *Phanerochaete chrysosporium*". Study of the shared promoter of the genes *fet3* y *ftt1* from basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. Agredo, M., <sup>1,2</sup>Polanco, R., <sup>2</sup>Canessa, P., <sup>1</sup>Lobos, S. y <sup>2</sup>Vicuña, R. <sup>1</sup>Depto de Bioquímica y Biología Molecular. Fac. de Cs. Qcas. y Farmacéuticas. U. de Chile. <sup>2</sup>Depto de Genética Molecular y Microbiología. Fac. de Cs. Biológicas. P. U. Católica de Chile. Patrocinio: Dra. Daniela Seelenfreund.

El hierro es uno de los metales más importantes en la bioquímica de los seres vivos. Este metal actúa como cofactor de una gran cantidad de enzimas y participa en muchas reacciones de óxido-reducción en la célula. Por otra parte, el hierro es potencialmente tóxico debido a su capacidad de generar radicales hidroxilos y aniones superóxidos. Estas características demuestran la importancia de estudiar la regulación del metabolismo del hierro. Estudios previos en levadura han demostrado la existencia de múltiples sistemas de transporte para este metal. Uno de ellos es el denominado de "alta afinidad por hierro", el cual es mediado por dos genes que codifican una ferroxidasa (*Fet3*) y una permeasa de transmembrana (*Ftr1p*). La expresión de ambos genes es comandada por un promotor compartido y es regulada a nivel transcripcional por el factor *Aft1p*. Nuestro laboratorio se ha abocado a estudiar este sistema de transporte de hierro en el basidiomicete *Phanerochaete chrysosporium* utilizando la información disponible del genoma completamente secuenciado de este hongo. Para ello clonamos el promotor compartido de los genes *fet3* y *ftt1*, el cual se dividió en varios fragmentos para su análisis sistemático mediante EMSA y footprinting. Uno de estos fragmentos de 166pb (*ft166*) es reconocido en forma específica por una proteína en distintas condiciones de cultivo. Financiado por: FONDECYT 1030495 y MIFAB.

CONTROL EPIGENETICO EN RESPUESTA A LA ADAPTACION ESTACIONAL DE *C. carpio*: LA VARIANTE DE HISTONA macroH2A (Epigenetic control under seasonal acclimatization: macroH2A histone variant) +Pinto, R.; +Alvarez, M.; +Molina, A.; +Bouvet, P.; +Vera, M.I. +Lab. De Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello, MIFAB, \*Ecole Normale Supérieure de Lyon, Francia.

Los cambios medioambientales pueden afectar drásticamente la fisiología de los organismos de un hábitat determinado. En especial, hemos estudiado los fenómenos moleculares que ocurren al pez *Cyprinus carpio*, teleosteo euritermal, en el cual hemos demostrado que la adaptación cíclica a los cambios estacionales se correlaciona con cambios en la expresión génica tanto a nivel transcripcional como traduccional. Recientemente, se ha entendido el importante efecto que ejercen en los procesos de control de la transcripción, factores no génicos o epigenéticos. Así, existen al menos tres grupos de factores epigenéticos que controlarían la expresión génica al nivel de la cromatina: las modificaciones postraduccionales en los extremos N y C-terminal de las histonas, la incorporación de histonas variantes a la cromatina y los complejos proteicos remodeladores de cromatina. Nuestra hipótesis de trabajo sostiene que una de las estrategias para articular la respuesta compensatoria estacional del pez *C. carpio* consiste en un control epigenético mediante la incorporación de variantes de histonas, las que marcan específicamente el estado transcripcional general de la cromatina en cada estación. Específicamente, macroH2A sería utilizada para establecer un estado silencioso en la cromatina invernal. Nuestros resultados indican una amplia distribución nuclear de macroH2A en tejido hepático de carpas aclimatizadas a la estación invernal. Sin embargo, en la estación cálida, la proteína se encuentra poco expresada y fundamentalmente asociada al nucleólo. Dicha observación es consistente con la disminución general de la transcripción observada en el pez durante la estación invernal.

Fondecyt 1040197, ECOS/Conicyt C02B01, DI-UNAB 24-02, DI-UNAB 96-01

INFLUENCIA DE LA FUENTE DE CARBONO EN EL METABOLISMO CAROTENOGÉNICO DE *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (Influence of the carbon source on the carotenogenic metabolism of *X. dendrorhous*). Wozniak, A.; Niklitschek, M.; Retamales, P.; Barahona, S.; Lozano, C.; Sepúlveda, D.; Cárdenas, M.; Baeza, M. y Cifuentes, V. Dpto. Cs. Ecológicas, Fac. de Ciencias, U. de Chile.

La síntesis de astaxantina en *X. dendrorhous* está afectada por la fuente de carbono y el tipo de metabolismo en que se encuentran las células. Se ha observado que un metabolismo aerobio favorece la producción de astaxantina, probablemente debido al desarrollo de una condición de estrés oxidativo. En el presente trabajo se estudió la producción de carotenoides en una cepa silvestre y mutantes sobreproductoras de *X. dendrorhous* utilizando distintas fuentes de carbono. En las cepas estudiadas se observó una mayor producción de carotenoides en glicerol y succinato, y una mayor biomasa en glucosa. Sin embargo, la levadura puede crecer en medio YM sin glucosa, pero no es capaz de producir carotenoides. Por otra parte, se observó que el crecimiento y la pigmentación en medio mínimo suplementado con una mezcla de glicerol y glucosa, fue mayor que cuando se utiliza cada uno en forma independiente. No obstante, el crecimiento en glicerol es pobre, sugiriendo que no es una buena fuente de carbono y que el aumento de la producción de carotenoides en éste podría estar asociado a otros procesos metabólicos en los que participa dicho compuesto. Previamente, hemos observado que la síntesis de carotenoides se induce al inicio del consumo del etanol, producto de la fermentación de la glucosa. Además, a partir del metabolismo del glicerol podría producirse etanol que conduciría a un estado de estrés oxidativo el cual induciría la síntesis de carotenoides. Estos resultados constituyen un importante aporte aplicable a la producción biotecnológica de astaxantina en *X. dendrorhous*. Financiamiento: Proyecto Fondecyt N° 1040450.

## Estructura y Función de Proteínas II

IMPORTANCIA DEL RESIDUO GLUTÁMICO 190 EN LA UNIÓN DE  $Mg^{+2}$  Y LAS PROPIEDADES CATALÍTICAS DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. (Role of the glutamic 190 residue in the binding of  $Mg^{+2}$  and catalytic properties of phosphofructokinase-2 from *E. coli*). Parducci, R., Cabrera, R. y Guixé, V. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La fosfofructoquinasa-2 (*Pfk-2*) de *E. coli*, es una enzima dimerica que pertenece a la familia PFKB y que presenta regulación alostérica por  $MgATP$  con inhibición de la actividad enzimática y la formación de tetrameros. Esta inhibición es revertida al aumentar la concentración de fructosa-6-P y de  $Mg^{+2}$  libre. En la familia de quinasas de azúcares PFKB, constituida por enzimas que fosforilan un grupo alcohol primario en el sustrato, se ha propuesto que un residuo conservado de glutámico es importante para la unión de  $Mg^{+2}$  en el sitio activo de estas enzimas. Con el objetivo de evaluar la función del glutámico conservado en la unión de  $Mg^{+2}$  y las propiedades catalíticas y regulatorias de la *Pfk-2*, se estudió el efecto de la mutación de este residuo por glutamina (E190Q). La mutante muestra un incremento de 20 veces en la  $K_M$  para  $MgATP$  y una disminución de 30 veces en la  $k_{cat}$ . A bajas concentraciones de  $Mg^{+2}$  libre (~1 mM) la enzima mutante, a diferencia de la enzima silvestre, no presenta inhibición por  $MgATP$ , pero es activada al aumentar la concentración de  $Mg^{+2}$  libre. En la enzima silvestre la reversión por  $Mg^{+2}$  de la inhibición alostérica está relacionada con la disminución de la  $K_M$  para fructosa-6-P. En la mutante E190Q, el  $Mg^{+2}$  afecta fundamentalmente la velocidad máxima sin cambios en la  $K_M$  para fructosa-6-P. Experimentos de fluorescencia intrínseca indican que la unión del  $Mg^{+2}$  a la mutante es modulada por la concentración de fructosa-6-P. Estos resultados sugieren que la unión de  $Mg^{+2}$  en la enzima silvestre está relacionada con el efecto inhibitorio de  $MgATP$ , mientras que en la mutante E190Q este residuo estaría implicado en la unión del  $Mg^{+2}$  y en la mediación entre la unión alostérica de  $MgATP$  y la inhibición de la actividad enzimática. Proyecto Fondecyt 1040892.

IMPORTANCIA DE LAS CISTEÍNAS 238 Y 295 EN LAS INTERACCIONES ENTRE LAS SUBUNIDADES EN EL DÍMERO Y EN EL TETRÁMERO DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. (Role of cysteines 238 and 295 in the intersubunit interactions in the dimer and tetramer forms of *E. coli* phosphofructokinase-2). Caniuguir, A., Cabrera, R., Babul, J. y Guixé, V. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La fosfofructoquinasa-2 (Pfk-2) de *E. coli* es una enzima dimérica, inhibida alostéricamente por MgATP, con la concomitante conversión de la enzima en tetrámeros. Estudios de modificación química han señalado la importancia de las cisteínas 238 y 295 en la estructura dimérica y la formación del tetrámero. En este trabajo se evaluó el efecto del cambio de estas cisteínas por alanina y fenilalanina sobre las propiedades de la interacción monómero-monómero y dímero-dímero de la Pfk-2. Determinaciones de la actividad enzimática de la enzima nativa y de las mutantes de C238, preincubadas a distintas concentraciones de proteína, indican la presencia un equilibrio monómero-dímero. La pérdida de actividad con la concentración de cloruro de guanidinio es similar en la enzima nativa y en las mutantes de C238, la que se correlaciona con la disociación del dímero en monómeros, según medidas de dispersión de luz. Estos resultados sugieren que la mantención de la estructura dimérica es esencial para la actividad enzimática y que el aminoácido C238 no contribuye significativamente a la interacción monómero-monómero. Las mutantes C295A y C295F son inhibidas alostéricamente por MgATP, pero es necesaria una concentración mayor de fructosa-6-P que en el caso de la enzima nativa para revertir la inhibición, lo que se relaciona con el incremento de la  $K_M$  y la  $K_D$  para fructosa-6-P en las mutantes. La concentración de cloruro de guanidinio necesaria para la pérdida de la mitad de la actividad en presencia de MgATP, es de 0,39 M en el caso de la enzima nativa y de 0,63 M en el caso de la mutante C295F, lo que sugiere que esta mutación afecta las propiedades de la interfaz dímero-dímero. Se presentará una correlación entre los efectos de las mutaciones y las posiciones de estos aminoácidos en la estructura modelada del dímero y el tetrámero de Pfk-2. Proyecto Fondecyt 1010645.

ACTIVIDAD AGMATINASA DE LAS VARIANTES N130D Y S137C DE ARGINASA DE HÍGADO HUMANO (Agmatinase activity of the N130D and S137C variants of human liver arginase). M. S. Orellana, R. Alarcón, P. Enríquez, N. Carvajal. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La arginasa y la agmatinasa hidrolizan sustratos guanidínicos estructuralmente relacionados y generan urea como uno de los productos. Otras analogías incluyen el requerimiento de  $Mn^{2+}$  y las funciones equivalentes de residuos específicos. A pesar de ello, el sustrato de una prácticamente no es hidrolizado por la otra. Al comparar las estructuras cristalinas disponibles para las arginasas de hígado de rata y de *B. caldovelox* y el modelo estructural que hemos generado para la agmatinasa de *E. coli*, se observa una importante diferencia en la extensión de un *loop* que contribuye a la formación del sitio activo en las arginasas y que incluye los ligandos para el -carboxilo de la arginina. Dado nuestro interés por establecer las bases moleculares de las diferencias de especificidad entre arginasa y agmatinasa, reemplazamos dos residuos presentes en el mencionado *loop* de la arginasa, generando las especies N130D, N130Q, S137C y S137A. Las especies analizadas no presentaron cambios en los espectros de fluorescencia ni el mecanismo cinético, mostrando sólo cambios menores en la  $V_{max}$  y aumentos en la  $K_m$  para arginina (5-10 veces). De ellas, las especies N130D y S137C presentaron una importante actividad agmatinasa, con actividades específicas de  $-0.9 \mu\text{moles urea} \times \text{mg}^{-1} \times \text{min}^{-1}$  y  $K_m$  para agmatina de 1.4 mM y 1.1 mM, respectivamente. Los resultados obtenidos apoyan nuestra hipótesis de que la estructura del *loop* analizado es uno de los determinantes de la especificidad de la arginasa de hígado humano. Fondecyt 1030038

CONSERVACIÓN DE LAS RUTAS DE CAMBIOS CONFORMACIONALES EN FAMILIAS DE PROTEÍNAS (Conservation of the conformational changes patterns in protein families). Arbildua, J. Sánchez, R. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Department of Physiology and Biophysics, Institute for Computational Biomedicine, Mount Sinai School of Medicine, New York, USA.

La unión de ligandos a las proteínas les permite cumplir sus diversas funciones biológicas. Entre la unión del ligando y la función median cambios conformacionales, que han sido caracterizados con métodos bioinformáticos y de ingeniería de proteínas. El objetivo de este trabajo es conocer los cambios conformacionales inducidos por ligandos en familias de proteínas, de modo de proponer una metodología para predecir, a partir de la estructura, el cambio conformacional y como este afecta la función de la proteína. Se seleccionó un conjunto de estructuras tridimensionales conocidas de alrededor de 900 pares de proteínas libres y formando complejos con ligandos pequeños. La comparación de las estructuras en el estado libre y unido mostró la conservación de los cambios conformacionales en familias de proteínas, como globinas y serino proteasas. Además, permitió diferenciar sitios acoplados estructuralmente, como por ejemplo el sitio de unión a NADH y dihidrofolato en la familia de la dihidrofolato reductasas. En la base de datos utilizada se observó que aproximadamente el 10% de los residuos de una proteína participan en cambios conformacionales y que estos residuos muestran un factor térmico superior que el promedio en la proteína, correspondiendo principalmente a estructuras "loop". A su vez, no se observó mayores cambios en la estructura secundaria con la unión del ligando, pues solo un 4,6% de los residuos en la proteína varían su estructura secundaria. La distribución geométrica de los residuos que participan en los cambios conformacionales (rutas), mostró que los movimientos son relativamente superficiales y no afectan el "core" de la proteína. Nuestros resultados sugieren que en el plegamiento de la proteína reside la información responsable de los cambios conformacionales, y obedecen más bien a un modelo general y no a la naturaleza del ligando, propiedad del modelo de "induced fit".

Financiado por Proyecto FONDECYT 1010848

PURIFICACIÓN Y PROPIEDADES DE LAS ACETIL XILANO ESTERASAS DEL HONGO *Penicillium purpurogenum*.

Purification and properties of the acetyl xylan esterases from the fungus *Penicillium purpurogenum*. Navarrete, M.<sup>1</sup>; Ravanal, M. C.<sup>1</sup>; Norambuena, P.<sup>2</sup>; Fuentes, A.<sup>2</sup>; Biely, P.<sup>3</sup> y Eyzaguirre, J.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello; <sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile y <sup>3</sup>Academia de Ciencias de Eslovaquia, Bratislava.

El hongo *P. purpurogenum* es un microorganismo que secreta al medio una gran variedad de enzimas celulolíticas y xilanolíticas. Entre estas últimas están las acetil xilano esterases, responsables de la hidrólisis de ésteres de acetato unidos a los residuos de xilosas de la cadena principal del xilano. De sobrenadantes de cultivo del hongo, utilizando xilano acetilado como fuente de carbono se han purificado a homogeneidad 3 acetil xilano esterases (denominadas AXE I, II y III) y se ha detectado una cuarta enzima con propiedades acetil esterásicas. Estas enzimas difieren entre sí en su peso molecular y punto isoeléctrico. Las AXE I y II han sido secuenciadas, demostrándose que son codificadas por genes diferentes, poseyendo la AXE I un dominio de unión a celulosa. Se discutirán los métodos de purificación utilizados, las propiedades diferenciales de estas enzimas, su especificidad de sustratos y algunas de sus características cinéticas. Este trabajo está en el contexto de una investigación conducente a definir la función de estas enzimas en la biodegradación del xilano, pues no está clara la necesidad que tiene el hongo de disponer de 3 o más isoenzimas que en apariencia son capaces de catalizar reacciones similares.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1040201 y Proyecto UNAB 19 - 03.

DINÁMICA MOLECULAR DE P53: COMPARACIÓN ENTRE LA PROTEÍNA SILVESTRE Y MUTANTE CYS135ARG. (Molecular Dynamics of p53: Comparison between Wild Type and Mutant Cys135Arg). Riadi, G.<sup>1</sup>, González, W.<sup>1</sup>, Aranda, M.<sup>2</sup>, González, D.<sup>1</sup> 1. Centro de Bioinformática, Universidad de Talca. 2. Fac. de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Fernando D. González-Nilo, PATROCINADOR.

El supresor de tumores p53 es un oncogen que codifica una proteína que se une al DNA modulando la expresión de otras proteínas durante la división celular. La función de p53 es crítica. En este locus mapean el mayor número de mutaciones relacionadas a casos de cáncer en humanos. Se estima que de las 6.5 millones de personas diagnosticadas en el mundo de cáncer al año, más de 3 millones presentan por lo menos una mutación en el gen p53. Casi 70 tipos distintos de cáncer, de un total de 204, son correlacionados con mutaciones en este gen. Es el caso de cáncer de pulmón, la mayor causa de muerte cada año en el mundo. La mutación Cys135Arg recientemente fue pesquisada en Chile como una de las responsables por ese tipo de cáncer. Este estudio es una primera aproximación para analizar en detalle, *in silico*, los efectos de esta mutación en la estructura de la proteína. Se hicieron 2 simulaciones de dinámica molecular (CHARMM 27) de 1 ns a las estructuras silvestre y mutante. Los modelos fueron generados utilizando como estructura de referencia los datos cristalográficos de la proteína p53 unido al DNA. La mutación fue construida usando el programa InsightII y relajada con protocolos de DM. La comparación de las estructuras promedios finales muestra claramente cómo la mutación ubicada en el interior de la proteína afecta indirectamente la conformación de uno de los dominios de unión a DNA. Esta mutación desplaza los residuos KSV del segundo lazo de este dominio. Además la mutación cambia el potencial electrostático de la superficie, lo que apoya la hipótesis sobre el efecto estérico en el área de contacto.

Agradecimientos: C. de Bioinformática U. Talca, DICYT-USACH

MODELO TRIDIMENSIONAL Y CORRELACION FUNCIONAL DE SITIOS DE UNION DE NUCLEOTIDOS EN LOS TRANSPORTADORES DE VITAMINA C. (Vitamin C transporters: 3D model and functional correlate of nucleotide binding sites). Ormazabal V., Zúñiga F.A., & Vera J.C. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.

La vitamina C existe en dos formas biológicamente activas, las cuales son transportadas por dos familia de transportadores. La forma oxidada, el ácido deshidroascórbico, es transportada por los transportadores facilitativos de glucosa (GLUTs) y la forma reducida, el ácido ascórbico, es transportada por los co-transportadores de sodio ascorbato (SVCTs). A pesar que ambos procesos de transporte son independientes de la hidrólisis de ATP, se ha identificado en GLUT1 y SVCT2 la existencia de cortas secuencias de aminoácidos con características de sitios de unión de nucleótidos como aquellos presentes en ATPasas y otras proteínas que requieren ATP u otros nucleótidos para su función. Utilizando células que expresan GLUT1 o SVCT2 y modelaje por homología, hemos analizado la presencia de sitios capaces de unir nucleótidos en ambos transportadores. Ensayos de transporte e inhibición utilizando tirfostinas, flavonoides y metilxantinas, compuestos que se unen a sitios de unión de nucleótidos, confirmaron la presencia de sitios funcionales con características de unión de nucleótidos en GLUT1 y SVCT2. Por otro lado, nuestros resultados utilizando modelos tridimensionales de los transportadores de vitamina C, sugieren la existencia de sitios estructurales con características de sitios de unión de nucleótidos los que se localizarían en ambos transportadores en segmentos de la cara exterior de los transportadores.

Beca CONICYT, proyectos FONDECYT 1020451 y DIUC 03-C4-01.

RELEVANCIA DE LA ARGININA 70 EN LA CATÁLISIS DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE *Saccharomyces cerevisiae*. (Relevance of arginine 70 for catalysis in *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase) Pérez, E., Ravanal, C., Flores, M., Aroca, F. y Cardemil, E. Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) cataliza una importante reacción en el metabolismo de los hidratos de carbono. En este trabajo se muestran los resultados del estudio de la función de uno de los aminoácidos del sitio de unión de fosfoenolpiruvato (PEP), específicamente de la Arg70, cuyo grupo guanidinio se encuentra cercano al grupo carboxilo del PEP.

Se determinaron los parámetros cinéticos para mutantes de Arg70. La eficiencia catalítica disminuyó 4 a 5 veces en la mutante Arg70Gln y Arg70Met, mientras que para Arg70Lis no se vio alterada. Para evaluar la interacción de la enzima con PEP, se utilizaron fosfopiridoxil derivados de estas mutantes y de la enzima salvaje. Se encontró que se pierden 2,1 kcal mol<sup>-1</sup> en la afinidad de unión por PEP en las PEPCKs Arg70Gln y Arg70Met, mientras que la afinidad por PEP para la PEPCK Arg70Lis fue similar a la de la enzima salvaje.

Estos resultados son interpretados en términos que la carga positiva de la Arg70 es necesariamente requerida para unir PEP. Es probable que esta carga positiva sea necesaria para estabilizar el intermediario de la reacción catalizada por la PEPCK, el enolpiruvato. Además, podría estar permitiendo el correcto posicionamiento de PEP en el sitio activo para la catálisis.

Financiado por FONDECYT 1030760

### Estructura y Función de Proteínas III

ESTUDIOS ESTRUCTURALES DE LA CysK DE *Geobacillus stearothermophilus* V: IMPORTANCIA DEL RESIDUO TIROSINA 298. (Structural studies of the CysK of *Geobacillus stearothermophilus* V: importance of the tyrosine 298 residue). Pérez J.M.\*, Muñoz C\*, Arenas, M.\*\*\*; Encinas, M.\*; González, D.\*\*\*; Fuentes, D.\*; Araya, A.\*\*\*; Vásquez, C.\* y Saavedra, C.\*\*\*. Fac. Química y Biología, USACH\*; Fac. Ciencias Salud, UNAB\*\*, UTALCA\*\*\*)

La cisteína sintasa (CysK) cataliza el último paso en la biosíntesis de cisteína. En nuestro laboratorio de demostró que esta proteína participa en la resistencia de *Geobacillus stearothermophilus* V al tóxico telurito de potasio (K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>). La CysK de *G. stearothermophilus* V es un homodímero, termoestable y dependiente de piridoxal 5'-fosfato (PLP) para su actividad. Utilizando los datos cristalográficos de la CysK de *Salmonella thymipurium* se realizó un modelo molecular por homología de la CysK de *G. stearothermophilus* V. Predicciones realizadas en base a este modelo y estudios con mutantes deletéreas, determinaron que el extremo carboxilo terminal y el residuo de Y298 sería fundamental para la unión del PLP a la proteína. Mediante mutagénesis sitio dirigida este residuo fue sustituido por alanina (Y298A). La proteína mutante fue purificada y análisis espectroscópicos determinaron que la enzima no une PLP ni forma el intermediario  $\delta$ -aminoacrilato en presencia del sustrato OAS a 20 y a 50°C. Se determinó que extractos crudos y que la enzima mutante CysKY298A altamente purificada no presentan actividad enzimática. Estos resultados sugieren que el residuo de Y298 participa en la estabilización del PLP a la matriz proteica y en la generación de una conformación activa. Además, un modelo molecular por homología obtenido de la CysK mutante (CysKY298A) permitió evaluar las perturbaciones de la matriz proteica generadas por este cambio. Financiado por Fondecyt 1030234 y Dicyt, USACH.

PRESENCIA DE EFECTORES RESPONSABLES DE LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA EN EPIMASTIGOTES DE *Trypanosoma cruzi*. EVIDENCIAS BIOQUÍMICAS (Presence of effectors responsible for the programmed cell death in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. Biochemical evidences).<sup>1,2</sup> Jiménez, V.,<sup>2</sup> Paredes, R.,<sup>1</sup> Sosa M.A. y<sup>2</sup> Galanti, N. <sup>1</sup>IHEM, Facultad de Ciencias Médicas, UNCuyo, Argentina-<sup>2</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La apoptosis es un proceso regulado, evolutivamente conservado y fundamental para la homeostasis tisular. Aunque extensamente estudiada en organismos multicelulares, aún está en discusión la presencia de muerte celular programada en organismos unicelulares. *Trypanosoma cruzi* es un protozoo hemoflagelado, responsable de la enfermedad de Chagas, crónica en Latinoamérica. El control de la población parasitaria es fundamental para la persistencia de la infección y podría deberse a la autoeliminación apoptótica de algunos parásitos, como mecanismo de supervivencia del resto de ellos.

En epimastigotes de *T. cruzi* hemos observado exposición de fosfatidilserina en la cara externa de la membrana plasmática y presencia de proteínas inmunorreactivas frente a anticuerpos dirigidos contra caspasas 3 y 8. Además, hemos encontrado marcadores tardíos de apoptosis, tales como células positivas a TUNEL, presencia de núcleos picnóticos y cuerpos apoptóticos y fragmentación de DNA.

Estos hallazgos sugieren que, en estos parásitos, la maquinaria apoptótica sería similar a la descrita en organismos multicelulares, extendiendo la conservación evolutiva de la muerte celular programada a protozoos. Adicionalmente, nuestros resultados sugieren la participación de la apoptosis como un mecanismo de regulación de la población parasitaria. RTPD/Network (SIDA -SAREC); Beca Financiamiento de tesis-U. de Chile

IDENTIFICACIÓN DE LOS DETERMINANTES MOLECULARES DE LA INTERACCIÓN DE LAS GLURs DE *Acidithiobacillus ferrooxidans* CON EL tRNA<sup>Glu</sup> (Identification of the molecular determinants of the interaction of GluRS from *A. ferrooxidans* with tRNA<sup>Glu</sup>). Inostroza, C., Salas, B.,<sup>§</sup> González, F.<sup>§</sup> y Orellana, O.<sup>§</sup> Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>§</sup> Centro de Bioinformática, Universidad de Talca.

*Acidithiobacillus ferrooxidans* posee dos sistemas de formación de Glu-tRNA<sup>Glu</sup> debido a la presencia de dos GluRSs, (GluRS1 y GluRS2) que presentan aminoacilación diferencial por los tRNA sustrato. Se piensa que la GluRS1 adquiriría las propiedades de la GluRS2 por reemplazo de aquellos residuos aminoacídicos clave en la interacción con el tRNA. Usando como estructura de referencia el complejo GluRS-tRNA<sup>Glu</sup> de *Thermus thermophilus* se construyeron modelos de los complejos GluRS1 y 2 con el tRNA<sup>Glu</sup> de *A. ferrooxidans*. Se identificaron las similitudes y diferencias estructurales. En la GluRS1 se ubicó en el dominio de interacción con el anticodón una arginina en la posición R351 y en la GluRS2 una asparragina N426 que son equivalentes a la R358 de *T. thermophilus*. La mutante R358Q de la GluRS de *T. thermophilus* cambió la especificidad por el anticodón del tRNA. Para estudiar la importancia de este residuo en la interacción con el tRNA por la GluRS1 se construyeron las mutantes R351N y R351Q. Mediante el uso de herramientas de dinámica molecular se analizaron los modelos estructurales de los complejos GluRS silvestre y mutante con el tRNA<sup>Glu</sup> de *A. ferrooxidans*. El análisis funcional de las enzimas mutantes *in vivo* en *Escherichia coli*, se realizó por complementación de cepas que permiten determinar la formación de Glu-tRNA<sup>Glu</sup> y de Glu-tRNA<sup>Gln</sup>.

Proyecto FONDECYT N° 1020087.

MODELO MOLECULAR DEL SENSOR DE POTENCIAL EN LOS CANALES DE K<sup>+</sup> SHAKER (Molecular model of the voltage sensor in Shaker K<sup>+</sup> channels) González, W.<sup>\*</sup>, González, C.<sup>§</sup>, Morera, F.<sup>§</sup>, Rosenmann, E.<sup>§</sup>, Alvarez, O., González-Nilo, F.<sup>\*</sup> y Latorre, R.<sup>§\*</sup> Centro de Bioinformática, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca, email: wgonzalez@utalca.cl. <sup>§</sup>Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo Prat 514, Valdivia. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago. Los segmentos S3b, S4 y el lazo S3-S4 se ordenan en forma de paleta en canales KvAP (Jiang y col., 2003). Sin embargo, la extrapolación de esta propuesta para los canales Shaker es aún controversial. Es por ello que simulamos el sensor de potencial del canal de potasio Shaker usando modelación por homología, dinámica molecular y optimización conformacional, de manera que el modelo cumpliera con las restricciones espaciales que arrojan los resultados experimentales. Los resultados muestran que al relajar por 1ns esta región, la  $\alpha$ -hélice del S3b presenta un quiebre. El punto de quiebre es la Thr-329 y corresponde al límite para S3 señalado por Wallner y col. (1996). Lo interesante es que este residuo es el punto en el cual cambia la periodicidad en dos niveles de energía para las constantes de activación, encontrada a partir de mutantes de delección. El ángulo de desfase que marca la Thr-329, medido a partir de la simulación es de  $152^\circ \pm 8^\circ$ . Este desfase es prácticamente el mismo que encontramos por la metodología de delección del S3b ( $159^\circ \pm 3^\circ$ ). Estos resultados sugieren que posiblemente el S3b tiene un punto de quiebre en la treonina 329. Sobre la base de esta propuesta estructural para el S3b y usando AutoDock se realizó un "docking" entre el reactivo MTSET y el S3 sustituyendo por cisteína las posiciones 315, 321, 324, 326 y 328 de S3. Los resultados muestran que el MTSET puede acceder hasta la posición 315 en el S3, a pesar de que la simulación fue hecha colocando el S3 en el interior de la membrana. Este hecho apoya los experimentos de accesibilidad y nuestra propuesta de que el S3b está ubicado en una cavidad. Este modelo del sensor de potencial del canal de potasio Shaker demuestra que el modelo de paleta propuesto por Jiang y colaboradores para KvAP, no se aplica para los canales Shaker.

Agradecimientos: Fondecyt 1030830, Fondecyt 1040254.

ASPECTOS MECANÍSTICOS, ESTEQUIOMETRÍA Y ORDEN DE UNIÓN DE SUSTRATOS EN EL TRANSPORTADOR DE VITAMINA C SVCT2. (Mechanistic aspects, stoichiometry and substrate binding order of the vitamin C transporter SVCT2). Godoy, A., Vera, J.C. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El transporte de ácido ascórbico es mediado por los co-transportadores de sodio-ascorbato SVCT1 y SVCT2. Utilizando células humanas expresando elevados niveles del transportador SVCT2, hemos caracterizado los componentes básicos del ciclo de transporte, incluyendo la dependencia, estequiometría y orden de unión de los sustratos, ascorbato<sup>-</sup> y sodio<sup>+</sup>. Nuestros resultados revelaron un claro efecto funcional recíproco entre ambos sustratos. Así, el transporte de ácido ascórbico aumentó en forma sigmoidea como función de concentraciones crecientes de iones sodio, con un efecto cooperativo positivo caracterizado por un n de Hill cercano a 2. Esto fue acompañado por una marcada disminución en la Km para el transporte de ácido ascórbico como función de concentraciones crecientes de iones sodio, desde valores superiores a 2 mM a 5 mM Na<sup>+</sup> a cerca de 20  $\mu$ M a 135 mM Na<sup>+</sup>. A la inversa, el ácido ascórbico afectó la cooperatividad por el Na<sup>+</sup> también en una forma dependiente de la concentración, pero con un comportamiento bifásico. Tanto a bajas (<20  $\mu$ M) como a elevadas (>300  $\mu$ M) concentraciones de ácido ascórbico se observó ausencia de cooperatividad por el sodio. Sin embargo, la concentración de Na<sup>+</sup> necesaria para observar el 50% de su efecto estimulador del transporte de ácido ascórbico, disminuyó continuamente como función de concentraciones crecientes de ácido ascórbico. Estos datos son compatibles con un orden de unión de los sustratos del tipo sodio<sup>+</sup>-ascorbato<sup>-</sup>-sodio<sup>+</sup> y una estequiometría sodio<sup>+</sup>:ascorbato<sup>-</sup> 2:1. Esto último fue confirmado realizando experimentos de transporte de Na<sup>+</sup> radiactivo en la presencia y en la ausencia de ácido ascórbico.

Beca CONICYT de Doctorado y Proyectos FONDECYT 1020451 y DIUC-03-C4-01.



EL GEN *ubiE* DE *Geobacillus stearothermophilus* V PARTICIPA EN LA EVOLUCIÓN DE DERIVADOS VOLÁTILES DE SELENIO EN *Escherichia coli* (The *ubiE* gene of *Geobacillus stearothermophilus* V participates in the evolution of volatile selenium derivatives in *Escherichia coli*). Vásquez, C.C.<sup>1</sup>, Araya, M.A.<sup>1</sup>, Saavedra, C.P.<sup>1</sup>, Chasteen, T.G.<sup>2</sup>, Plishker, M.F.<sup>2</sup>, Swearingen Jr., J.W.<sup>2</sup>, <sup>1</sup> Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile; <sup>2</sup> Department of Chemistry, Sam Houston State University, Texas, USA.

Diversos agentes oxidantes causan daño celular modificando irreversiblemente blancos intracelulares. Entre éstos y aun cuando es un elemento esencial a bajas concentraciones, el anión selenito presenta toxicidad para la mayoría de los seres vivos cuando excede estos límites. De este modo, los organismos en general deben regular exquisitamente la concentración de Se que es mantenida en el citosol.

Dado que las bases genéticas y/o bioquímicas de la resistencia bacteriana a selenito son aún poco conocidas, en el laboratorio hemos usado como modelo el bacilo Gram positivo *Geobacillus stearothermophilus* V para estudiar los mecanismos moleculares que subyacen la resistencia que éste presenta frente al anión selenito (MIC 175 i g/ml).

Nuestra estrategia ha consistido en general en aislar y caracterizar genes de *G. stearothermophilus* V que confieren resistencia a selenito cuando son expresados en *Escherichia coli*. Para ello hemos construido genotecas en vectores de alto número de copias las que han sido transformadas en el huésped mesofílico sensible a selenito. La selección fue por adquisición de un fenotipo  $Se^R$ -Amp<sup>R</sup>. Hemos encontrado que el gen *ubiE* de *G. stearothermophilus* V confiere un fenotipo  $Se^R$  en *E. coli*. Nuestros resultados apuntan a que la base molecular más probable de esta resistencia es la conversión de  $SeO_3^{2-}$  en derivados volátiles metilados de Se que hemos identificado en la fase aérea de cultivos a los que se ha agregado  $Na_2SeO_3$ . Financiado por Fondecyt 1030234.

LA BOMBA DE RESISTENCIA A MULTIDROGAS (MDR) QacC, FUNCIONA EN SERIE CON TolC CUANDO ES EXPRESADA EN HOSPEDEROS GRAM NEGATIVOS. (The *Staphylococcus* multidrug resistance (MDR) pump, QacC, functions in series with TolC when expressed in Gram-negative hosts). Fuentes, D.E., Navarro, C.A., Tantaleán, J.C., Araya, M.A., Saavedra, C.P., Pérez, J.M., Calderón I.L., y Vásquez, C.C. (Facultad de Química y Biología, USACH; Univ. San Luis Gonzaga, Ica, Perú; Universidad Nacional Andrés Bello).

En nuestro laboratorio se aisló una cepa de *Staphylococcus epidermidis* que contiene un plasmidio de 2.391 pb, el que fue secuenciado y denominado pSepCH. Este plasmidio codifica entre otras, para una pequeña proteína de resistencia múltiple a drogas, (SMR), miembro de las proteínas QacC de *Staphylococcus*. Este gen confiere resistencia a bromuro de etidio y a oxacilina tanto en su huésped natural como en los huéspedes heterólogos Gram negativos *Escherichia coli* K12 y *Salmonella enterica* sv. Typhimurium. Usando cepas mutantes  $\Delta tolC$  y  $\Delta ompD$  de *S. Typhimurium* se estudió la posible interacción de QacC de *S. epidermidis* con estos canales de membrana externa en el proceso de flujo de los tóxicos en estudio. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (MIC) de diversos agentes para las mutantes  $\Delta tolC$  y  $\Delta ompD$  y para las mismas transformadas con genes *smr* de *S. epidermidis*. Los resultados obtenidos permitieron concluir que la resistencia a bromuro de etidio en *S. Typhimurium* es dependiente de TolC mientras que la resistencia a oxacilina no lo es, sugiriendo que QacC estaría participando en serie con bombas de flujo multicomponentes de drogas.

Financiado por Fondecyt 1030234 y Dicyt, USACH.

EFFECTO DE LA MUTACIÓN Tyr23Asp EN EL CONTROL ALOSTÉRICO DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. (Effect of the Tyr23Asp mutation in the allosteric control of *E. coli* Phosphofructokinase-2) Pouchucg, L., Baez, M., Cabrera, R., Guixé, V. y Babul, J. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La fosfofructoquinasa 2 de *E. coli* (Pfk-2) cataliza la fosforilación de fructosa-6-P a fructosa-1,6-bisfosfato dependiente de MgATP. Esta enzima es inhibida alostericamente por MgATP, concomitantemente con un cambio en el estado de agregación de dímero a tetramero. La mutación puntual Tyr23Asp genera una enzima que no es inhibida por MgATP y que no tetrameriza en las condiciones estudiadas para la enzima silvestre. Para determinar el origen de las alteraciones en esta mutante se estudió la unión de MgATP y la agregación inducida por este compuesto, a distintas concentraciones de proteína. En presencia de MgATP, el volumen hidrodinámico de la mutante, determinado por cromatografía de filtración molecular, varía con la concentración de proteína desde el correspondiente a un dímero, obtenido a bajas concentraciones de proteínas, a un volumen semejante al observado para el tetramero silvestre, a elevadas concentraciones de proteína. Este cambio en el estado de agregación fue acompañado por un incremento de la estequiometría de unión de MgATP, la que a elevadas concentraciones de proteína fue cercana a 2 moles de MgATP por mol de monómero. Por otra parte, MgATP es capaz de unirse a la mutante en condiciones en las que se encuentra como dímero, según experimentos de fluorescencia intrínseca. Se postula que la mutación puntual Tyr23Asp, aumenta la constante de tetramerización inducida por MgATP, por lo que la enzima mutante no es capaz de tetramerizar a concentraciones bajas de proteína, como lo hace la enzima silvestre, ni presenta inhibición a las concentraciones de proteína utilizadas en los ensayos cinéticos. Proyecto Fondecyt 1010645

ANTAGONISMO ENTRE LA UNIÓN DE MgATP AL SITIO ALOSTÉRICO Y LA DE FRUCTOSA-6-P AL SITIO ACTIVO EN LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. (The allosteric binding of MgATP antagonizes the binding of fructose-6-P to the active site in the phosphofructokinase-2 from *E. coli*) Castro, M., Pagliai, F., Cabrera, R., Babul, J. y Guixé, V. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La unión de MgATP a un sitio alostérico en la forma dimerica de la Pfk-2 de *E. coli* produce inhibición de la actividad enzimática y la formación de tetrameros. A concentraciones bajas de fructosa-6-P la actividad decrece sobre MgATP 0,5 mM, efecto que disminuye con el aumento en la concentración de fructosa-6-P. Para obtener mayor detalle sobre el mecanismo inhibitorio de MgATP se determinó la  $K_M$  para fructosa-6-P y la  $V_{max}$  a diferentes concentraciones del inhibidor alostérico. La  $K_M$  aparente para fructosa-6-P aumenta hiperbólicamente con la concentración de ATP. La  $K_M$  para fructosa-6-P a concentraciones saturantes de ATP fue de 150 i M. La  $V_{max}$  aparente disminuye a concentraciones de MgATP sobre 0,5 mM con un comportamiento que presenta saturación. Para evaluar el efecto de la unión de fructosa-6-P al sitio activo sobre la tetramerización inducida por la unión de MgATP al sitio alostérico, se determinó el radio hidrodinámico de la enzima por medidas de dispersión dinámica de luz, usando una mutante inactiva de la enzima cuyas constantes cinéticas no difieren significativamente de las de la enzima silvestre. Se observó que la concentración de MgATP necesaria para producir la mitad del cambio en el radio hidrodinámico se incrementa con la concentración de fructosa-6-P. Los resultados sugieren que la inhibición producida por la unión de MgATP al sitio alostérico se debe a la generación de una forma inhibida que presenta tanto una disminución en la afinidad por fructosa-6-P como una constante catalítica menor y, en su conjunto, apoyan un mecanismo antagónico en el que la unión al sitio alostérico disminuye la afinidad del sitio activo y viceversa. Se propone un modelo que da cuenta de los efectos mencionados. Proyecto Fondecyt 1040892.

MODELOS DE LAS SUBUNIDADES SDH2-1 Y SDH2-3 DE SUCCINATO DESHIDROGENASA DE *Arabidopsis thaliana* (Models of the subunits SDH2-1 and SDH2-3 of succinate dehydrogenase of *Arabidopsis thaliana*). Roschztardt, H., Jordana, X y Melo F. Laboratorio de Bioquímica, Depto. de Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

El complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial o succinato deshidrogenasa cataliza la reacción de oxidación de succinato a fumarato y de reducción de ubiquinona a ubiquinol. El complejo II está formado por 4 subunidades, una flavoproteína (SDH1), una proteína hierro azufre (SDH2) y dos pequeñas proteínas de membrana (SDH3 y SDH4). Nuestro grupo determinó que existen tres genes nucleares que codifican para SDH2 en *Arabidopsis thaliana* (SDH2-1, SDH2-2 y SDH2-3). Los genes SDH2-1 y SDH2-2 codifican para proteínas muy parecidas, mientras que el gen SDH2-3 codifica para una proteína más divergente que las primeras. En este trabajo se muestra el modelado por homología de las subunidades SDH2-1 y SDH2-3, usando datos cristalográficos de succinato deshidrogenasa homóloga de *Escherichia coli*. Resultados de la comparación de los modelos obtenidos indican que ambas subunidades se diferencian principalmente en el contenido y la distribución de aminoácidos cargados.

Financiado por FONDECYT 1020930 y Beca Apoyo Tesis 2003.

PARTICIPACIÓN DEL GEN *cadA* DE *Geobacillus stearothermophilus* LV EN RESISTENCIA A CADMIO EN *Escherichia coli* y en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (Participation of the *cadA* gene of *Geobacillus stearothermophilus* LV in cadmium resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium). Henríquez D., Navarro C., Pérez J. M., Vásquez C.C. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

En el laboratorio hemos estado interesados en el estudio de la bacteria termofílica Gram positiva *Geobacillus stearothermophilus* LV, que exhibe una elevada resistencia a metales pesados. En este contexto, identificamos un segmento de DNA genómico de este organismo que presenta dos marcos de lectura abiertos (ORFs) con alta identidad de secuencia con las proteínas CadA y CadC de *Bacillus halodurans* y *B. firmus*. CadA es una ATPasa tipo-P involucrada en el flujo de cadmio y CadC es su potencial regulador transcripcional. La sobreexpresión del gen *cadA* en *E. coli* JM109 (DE3), al contrario de lo esperado, generó un fenotipo de hipersensibilidad a cloruro de cadmio.

Con el fin de explicar estos resultados, se realizó ensayos con cepas de *E. coli* JM109, *E. coli* DH5 $\alpha$  y de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. En ellas, la expresión basal del gen *cadA* de *G. stearothermophilus* LV causa un leve aumento en la resistencia a cadmio. Dado que una posibilidad es que algún sistema de flujo endógeno este enmascarando la acción del gen *cadA* en *E. coli* y en *Salmonella*, decidimos inactivar el ORF STM3576 de *S. Typhimurium* (presenta 85% de identidad de secuencia aminoácida con la proteína ZntA de *E. coli*). La mutante *zntA* de *Salmonella* (hipersensible a CdCl<sub>2</sub>) pudo ser complementada genéticamente con el gen *cadA* del bacilo termofílico.

Financiado por Fondecyt 1030234.

EFFECTO DE CATIONES MONOVALENTES EN LA ESTABILIDAD, ESTRUCTURA Y PARÁMETROS CINÉTICOS DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. (Effects of monovalent cations in the stability, structure and kinetic parameters of phosphofructokinase-2 from *E. coli*). Oliveri, F., Baez, M. y Babul, J. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Muchas quinasas requieren cationes monovalentes como K<sup>+</sup> o NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, además de cationes bivalentes, para su actividad. *E. coli* expresa dos fosfofructoquinasas, denominadas Pfk-1 y Pfk-2, que pertenecen a familias no relacionadas filogenéticamente. La actividad enzimática de las fosfofructoquinasas de la familia de la Pfk-1 es modulada por NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y K<sup>+</sup>, mientras que el efecto de estos cationes sobre la estructura y parámetros cinéticos sobre Pfk-2 no se conoce. Se encontró que, a diferencia de la Pfk-1, la presencia de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y K<sup>+</sup> no tiene efecto sobre la velocidad máxima de la Pfk-2, en un intervalo de 0 a 0,5 M. Sin embargo, el valor de la K<sub>m</sub> para fructosa-6-P aumentó de 24 a 100  $\mu$ M a concentraciones de K<sup>+</sup> entre 0 y 10 mM. Cinéticas de digestión proteolítica obtenidas entre 0 y 10 mM de K<sup>+</sup> no mostraron cambios en el patrón de fragmentos ni en la velocidad de digestión de la proteína, los que se afectaron a concentraciones mayores de K<sup>+</sup>. Los cambios en la estabilidad de la enzima, observados mediante curvas de desnaturación inducidas por urea a diferentes concentraciones de K<sup>+</sup>, no son lineales a bajas concentraciones del catión. Esto sugiere un efecto específico de K<sup>+</sup> en la estabilidad de la Pfk-2, el que puede ser correlacionado con un aumento de la K<sub>m</sub> aparente para fructosa-6-P a bajas concentraciones de K<sup>+</sup>, pero no a los cambios conformacionales detectados por ensayos de proteólisis limitada a altas concentraciones del catión. Proyecto Fondecyt 1010645.

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN Y FUNCIÓN DE NURR1 EN LA LÍNEA CELULAR RCSN-3 (Study of Nurr1 expression and function in the RCSN-3 cell line). García T., Vecchiola A., <sup>2</sup>Caviedes P. y <sup>1</sup>Andrés M.E. 1 Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. 2 Programa de Farmacología, ICBM, Universidad de Chile.

En la búsqueda de una línea celular adecuada para el estudio del control transcripcional que ejerce Nurr1 sobre tirosina hidroxilasa (TH), hemos caracterizado la línea celular RCSN-3 proveniente de sustancia negra de rata adulta. Mediante experimentos de western-blot e inmunofluorescencia, observamos que Nurr1 se expresa en esta línea celular y que se ubica en el núcleo, tal como está descrito en sustancia negra de rata adulta (Ojeda y cols., JNR, 73:686, 2003). Experimentos de inmunofluorescencia indican la presencia de inmunoreactividad tipo TH en las células RCSN-3, sin embargo en western-blots no se observa una proteína del tamaño correspondiente a la TH de sustancia negra de rata. Paralelo a esto, experimentos de RT-PCR generan un producto de menor tamaño al esperado. Estos datos sugieren que TH en las células RCSN-3 puede corresponder a un forma truncada.

La transfección con Nurr1 en esta línea celular aumenta la expresión del producto PCR de TH y genera la aparición de dos nuevos productos. La secuenciación de estos productos nos permitirá determinar su origen. Además, la sobre expresión de Nurr1 induce un aumento en la inmunoreactividad tipo TH en experimentos de inmunofluorescencia. Estos datos sugieren que la línea celular RCSN-3 tiene marcadores de células de mesencéfalo ventral y que potencialmente puede ser útil en el estudio del control transcripcional que ejerce Nurr1 sobre genes del fenotipo dopaminérgico.

FONDECYT# 1030496

MODELO DE INTERACCIÓN DE FICOBILIPROTEÍNAS EN UNA VARILLA DEL FICOBILISOMA DE *GRACILARIA CHILENSIS*. (Interaction model of phycobiliproteins in a rod of the phycobilisome from *Gracilaria chilensis*). Figueroa, M<sup>1</sup>, Almonacid, D<sup>2</sup>, Matamala, A<sup>2</sup>, Bunster, M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Biofísica Molecular, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Cs Biológicas, Universidad de Concepción; <sup>2</sup>Grupo de Química Teórica y Computacional, Facultad de Cs Químicas, Universidad de Concepción

Ficobilisomas son los principales complejos accesorios para la captación y conducción de luz en cianobacterias y algas rojas. Los Ficobilisomas del alga roja pluricelular *Gracilaria chilensis* están compuestos por un core central de discos de la ficobiliproteína alofococianina (APC) del cual irradian varillas compuestas en su porción proximal por la ficobiliproteína G ficocianina (C-PC) y en su porción distal por Rficoeritrina (R-PE). En este trabajo se presenta el modelo de una varilla de este ficobilisoma compuesta por 2 ficocianinas y 2 ficoeritrinas utilizando la estructura atómica de GPC y RPE determinada mediante la técnica de difracción de rayos X. Los complejos se obtuvieron mediante docking proteico con el software ZDOCK en 3 modalidades: docking GPC – C-PC; docking GPC – R-PE; docking R-PE – R-PE. Una varilla completa se construyó usando alineamiento estructural con el software SPDBV. A este complejo se le hizo una dinámica de 200 ps con el programa GROMACS para obtener una configuración mínima energética. Para validar el modelo propuesto, se determinaron constantes de transferencia de energía entre cromóforos de ficocianinas vecinas en las varillas. Los valores obtenidos resultaron similares a los observados con el uso de técnicas experimentales.

Proyecto DIUC. N° 202.31.91-1.0

EL ÁCIDO 2,5-METILDIDROXICINÁMICO INHIBE AL TRANSPORTADOR DE HEXOSAS GLUT1 POR UNIÓN A SU CARA ENDOFACIAL (2,5-methyl-dihydroxycinnamic acid inhibits the Glut1 hexose transporter by binding to its endofacial face). Wally Bergmann, Mauricio Vargas y Alejandro M. Reyes. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Glut1 es un transportador facilitativo de hexosas, abundante en eritrocitos humanos, cuya actividad es modificada por una serie de compuestos caracterizados como inhibidores de tirosina quinasas (Vera *et al. Biochemistry* 40, 777-790, 2001). Entre estos, el ácido 2,5-metildihidroxicinámico (MHC) corresponde al análogo sintético de un producto natural de *Actinomycetes*. Nuestro estudio se ha centrado en averiguar de qué manera MHC interactúa con el transportador y cómo modifica su actividad. Para ello hemos realizado análisis cinéticos del transporte de análogos de D-glucosa en condiciones de entrada y salida de sustratos en eritrocitos humanos. Asimismo, se ensayó la salida de D-glucosa en condiciones infinito-cis (ensayos de Sen-Widdas). En todas estas condiciones el compuesto fue un excelente inhibidor, con valores de  $K_i$  entre 150-200  $\mu$ M. En condiciones de entrada la inhibición fue mixta no competitiva, mientras que fue competitiva en los ensayos de salida. Las determinaciones en condiciones cis-infinito mostraron que el inhibidor no afecta la unión de D-glucosa a su sitio externo. Por otro lado, ensayos de desplazamiento de citocalasina B unida a Glut1 indican que el inhibidor se une de manera directa al transportador. Los resultados son compatibles entonces con la unión del inhibidor a un sitio accesible por la cara interna endofacial del transportador.

(Financiado por proyecto FONDECYT 1020908).

## INDICE GENERAL

Programa.....	3	Clément, P.....	33
Conferencias.....	18	Collados, L.....	29
Simposios.....	20	Corcuera, L.....	32
Incorporaciones.....	25	Cornejo, P.....	26
Comunicaciones libres.....	27	Cortazzo, P.....	20
Paneles.....	39	Cota, G.....	20
Adonis, W.....	28	Chasteen, T.G.....	40
Agredo, M.....	35	Chemale, G.....	21
Alarcón, R.....	36	Chianale, P.....	28
Alcaíno, J.....	34	De la Iglesia, R.....	26
Almonacid, D.....	42	Deana, A.....	20
Álvarez, K.....	29	Díaz, J.....	34
Álvarez, M.....	29, 35	Dinamarca, J.....	33
Álvarez, O.....	38	Edwards, A.M.....	28
Amoroso, A.....	34	Ehrlich, R.....	20, 21
Amthauer, R.....	24	Encinas, M.....	37
Andrés, M.E.....	29, 41	Enríquez, P.....	36
Aranda, M.....	37	Enríquez, S.....	30
Araya, A.....	37	Eyzaguirre, J.....	34, 36
Araya, M.A.....	40	Faúndez, P.....	29
Arbildua, J.....	31, 36	Fernández, V.....	26
Arenas, M.....	37	Ferreira, H.B.....	21
Aroca, F.....	37	Figueroa, M.....	42
Ayala A.....	30	Fischbarg, J.....	31
Babul, J.....	36,40, 41	Flores, M.....	37
Baez, M.....	40, 41	Fuentes, A.....	36
Baeza, M.....	34	Fuentes, D.....	37
Barahona, S.....	34, 35	Fuentes, D.E.....	40
Becker, M. I.....	28	Fuentes, M.I.....	29
Bell, J. E.....	24	Fullerton, D.....	29
Bergmann, M.....	42	Galanti, N.....	21,28,30, 38
Bernal, G.....	30	Gancedo, C.....	20
Bertinat, R.....	31	Garcés, A.....	31
Biely, P.....	36	García K, A.....	32
Bocca, P.....	32, 33	García, A.....	29
Bouvet, P.....	35	García, L.....	29
Brauchi, S.....	32	García, T.....	41
Bravo, L.....	32	Gatica R.....	31
Bravo, L. A.....	33	Gidekel, M.....	32, 33
Bull, P.....	34	Godoy, A.....	38
Bunster, M.....	42	Godoy, P.....	28
Burzio, L.O.....	23	Gómez, A.....	29
Burzio, V.....	23	Gómez, I.....	33
Cabezón, C.....	21, 30	González, B.....	26
Cabrera, G.....	21, 30	González, C.....	38
Cabrera, R.....	26,35,36, 40	González, D.....	37
Calderón, I.L.....	40	González, F.....	38
Canessa, P.....	35	González, J.....	21
Caniuguir, A.....	36	González, W.....	32,37, 38
Cárcamo, J.....	32	González-Nilo, F.....	32, 38
Cardemil, E.....	37	Grimm, E.D.....	21
Cárdenas, M.....	35	Guixé, V.....	35,36, 40
Cartier, L.....	29	Gutiérrez, A.....	32, 33
Carvajal, N.....	30, 36	Guzmán, L.....	28
Carvallo, I.....	32	Henríquez D.....	41
Carvallo, P.....	29	Herrera, R.....	24
Castillo, D.....	28	Hidalgo, C.....	24
Castro, M.....	40	Horjales, S.....	20
Caviedes, P.....	29, 41	Iragüen, D.....	21
Cifuentes, V.....	34, 35	Inostroza, C.....	38

Iruretagoyena, M.	28
Jiménez, V.	21,28, 38
Jordana, X.	32,33, 41
Kettlun, A.M.	29
Krause, B.	29
Larrondo, L.	34
Latorre, R.	32, 38
León, F.	29
León, G.	32
Leyton, L.	23
Lobos, S.	34, 35
López, F.	29
López, V.	30
Lopez-Lastra M.	26
Lozano, C.	34, 35
Maldonado, E.	30
Marin, M.	20
Martínez, C.	21
Martínez, R.	23
Martínez-Oyanedel, J.	22
Matamala, A.	42
Maya, J.D.	22
Melo, F.	41
Molina, A.	35
Monasterio, O.	31, 36
Montero F.	31
Montoya, M.	23
Morello, A.	22
Morera, F.	38
Moya-León, M.A.	24
Muñoz, C.	37
Navarrete, M.	36
Navarro C.	41
Navarro, C.A.	40
Niklitschek, M.	34, 35
Norambuena, P.	36
Ojeda, P.	31
Olivari, F.	41
Orellana, M.S.	36
Orellana, O.	38
Orio, P.	32
Ormazabal V.	31, 37
Oyarzún, I.	30
Pacheco, A.	28
Pagliai, F.	40
Parducci, R.	35
Paredes R.	21,28,30, 38
Pérez, E.	37
Pérez, J.M.	37,40, 41
Pérez-Pantoja, D.	26
Pieper, D.	26
Pinto, R.	35
Plishker, M.F.	40
Polanco, R.	34, 35
Polikarpov, I.	21
Pouchucq, L.	40
Quest, A.F.G.	23
Ramírez, E.	29
Ramírez, M.	28
Ravanal, C.	37
Ravanal, M. C.	36
Reiss, C.	20
Retamales, P.	34, 35
Reyes, A.M.	30,31, 42

Riadi, G.	32, 37
Rivas, C.I.	23
Rojas, H.	28
Rojas, M.C.	32, 33
Roschttardt, H.	33, 41
Rosenmann, E.	38
Saavedra, C.	37, 40
Salas, A.	31
Salas, B.	38
Salas, G.	28
Salas, M.	30
Salinas, M.	29
Sánchez, R.	36
Santander, M.	23
Santis, P.	34
Señorale, M.	20
Sepúlveda, D.	34, 35
Slebe, J.C.	31
Sosa, M.A.	38
Suárez, D.	28
Swearingen Jr., J.W.	40
Tamayo, E.	30
Tantaleán, J.C.	40
Torrealba, C.	29
Torres, V.	23
Troncoso, C.	32, 33
Ureta, T.	19
Uribe, E.	30
Valenzuela, MA.	29
Varela, P.	26
Vargas, M.	42
Vásquez C.	37,40, 41
Vecchiola A.	41
Vera J.C.	23,31,37, 38
Vera, M.I.	35
Vicuña, R.	19,34, 35
Videla, L.A.	26
Villegas, J.	23
Villota, C.	23
Vollrath, V.	28
Wielandt, A.	28
Wistuba, I.	29
Wozniak, A.	34, 35
Yáñez, A.J.	31
Zaelzer, C.	32
Zaha, A.	21
Zúñiga, F.A.	31, 37