



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

23-26 de Septiembre de 2008
Termas de Chillán
CHILE

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

23-26 de Septiembre de 2008

Termas de Chillán, Chile

Directorio

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

AUSPICIADORES

INSTITUCIONES

Fundación Chilena para Biología Celular

Universidad de Talca

Universidad Diego Portales

Facultad de Ciencias Biológicas y Vicerrectoría Académica,
Universidad de Concepción

Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

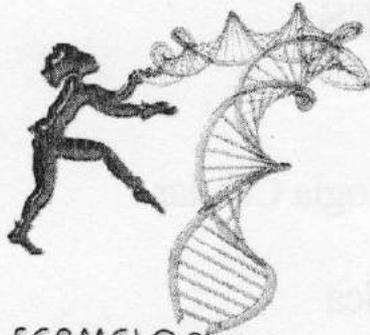
Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de
Chile

Universidad Nacional Andrés Bello, Vicerrectoría de Investigación
y Postgrado

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

Pan American Association for Biochemistry and Molecular Biology
PABMB

EMPRESAS

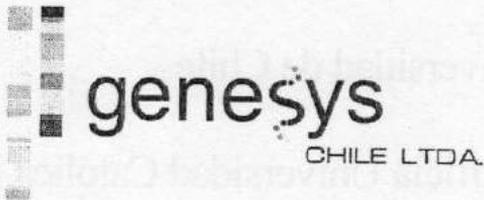


FERMELO Biotec

FERMELO S.A.



BIOS CHILE I.G.S.A.



GENESYS



GENEXPRESS



BIOSCAN



Al servicio de la Ciencia

TCL

Programa

MARTES 23 DE SEPTIEMBRE

- 11:00- 14:00 INSCRIPCIONES
- 13:00- 14:30 ALMUERZO
- 15:00-17:00 COMUNICACIONES LIBRES I
 Sala A

MICROBIOLOGÍA Y VIROLOGÍA

Presidente: Claudio Vásquez

Secretario: Nicolás Guiliani

- 15:00 **CLONALIDAD DE CEPAS DE ACINETOBACTER BAUMANNII PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS AISLADAS EN HOSPITALES CHILENOS** (Clonality of carbapenemase-producer strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from Chilean hospitals) **Opazo, A.**¹, Flores, M.¹, Bello, H.¹, Dominguez, M.¹, Garcia, P.², San Martin, M.³, Sakurada, A.⁴, González, G.¹. Depto Microbiología, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción¹, Fac. Medicina, P. Universidad Católica de Chile², Lab. Centralizado, Hospital Barros Luco³, Unid. Microbiología, Hosp. Clínico Universidad de Chile⁴. Patrocinante: Martinez, J.
- 15:15 **LOS COMPONENTES DEL COMPLEJO PIRUVATO DESHIDROGENASA DE *Aeromonas caviae* MEDIAN RESISTENCIA A TELURITO DE POTASIO EN *Escherichia coli*** (The components of the pyruvate dehydrogenase complex of *Aeromonas caviae* mediate resistance to potassium tellurite in *Escherichia coli*.) **Molina, R.**¹, Castro, M.¹, Diaz, W.¹, Vásquez, C.¹. Laboratorio de Microbiología Molecular. Facultad de Química y Biología. USACH¹.
- 15:30 **ESTUDIO DE TRANSPORTE IN VITRO EN PROTEOLIPOSOMAS DE LAS PORINAS OMPD, OMPW Y OMP L DE SALMONELLA ENTERICA SV. TYPHIMURIUM** (In vitro transport studies using proteoliposomes containing OmpD, OmpW or OmpL porins from *Salmonella enterica sv Typhimurium*) **Gutierrez, J.I.**^{1,2}, Villarreal, J.M.^{1,2}, Collao, B.^{1,2}, Parra, S.^{1,2}, Aspee, A.³, Saavedra, C.⁴. Laboratorio de Microbiología Molecular, Dpto. Ciencias Biológicas,¹ Universidad Andrés Bello², Laboratorio de cinética y fotoquímica molecular, Dpto. de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile³, Laboratorio de Microbiología Molecular, Dpto. Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello⁴.
- 15:45 **REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA GLUTAMIL-TRNA SINTETASA DE *A. ferrooxidans* POR EL ESTADO REDOX.** (Regulation of GluRS1 of *A. ferrooxidans* by the redox status) **Katz, A.**¹, Ibba, M.², Orellana, O.¹. Programa de Biología Celular y Molecular. ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹, Department of Microbiology, Ohio State University, USA.².

- 16:00 **UTILIZACIÓN DE HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FUNCIONES GÉNICAS QUE PODRÍAN SER REGULADAS POR EL SISTEMA QUORUM SENSING *afel/afeR* DE *Acidithiobacillus ferrooxidans*** (Using bioinformatic tools to identify genes that might be regulated by the *afel/afeR* quorum sensing system from *Acidithiobacillus ferrooxidans*) **Banderas, A.¹**, Guiliani, N.¹. Lab. Microbiología Molecular y Biotecnología. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile, Ins. Dinámica Celular y Biotecnología (ICDB)¹. Patrocinante: Preller, A.
- 16:15 **COMPRIENDIENDO LA VIDA QUIMIOLITOAUTOTROFICA A PH 1 A TRAVES DE LA GENOMICA COMPARATIVA** (Insights into chemolithoautotrophic life at pH 1 using comparative genomics) Quatrini, R.¹, Holmes, D.¹, **Valdés, J.²**. Centro de Bioinformática y Biología Genómica, Fundación Ciencia para la Vida. Programa de doctorado en Biotecnología, Universidad Andrés Bello.¹, Centro de Bioinformática y Biología Genómica, Fundación Ciencia para la Vida. Programa de doctorado en Biotecnología, Universidad Andrés Bello.². Patrocinante: Jedlicki, E.
- 16:30 **LA PROTEINA HUR, ES UN MODULADOR DEL INICIO DE LA TRADUCCION MEDIADA POR IRES EN HIV-1 Y HCV** (The Elav-like protein, HuR, is a modulator of HIV and HCV IRES-mediated translation initiation.) Rivas, A.¹, **Ramdohr, P.¹**, Vallejos, M.¹, Dormoy-Raclet, V.², Rodríguez, F.³, Valiente, F.¹, Huidobro-Toro, J.P.³, Gallouzi, I.², López-Lastra, M.¹. Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, McGill University, Montreal, Quebec, Canada.², Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile³.
- 16:45 **IDENTIFICACIÓN DE UN SITIO INTERNO DE ENTRADA DEL RIBOSOMA EN LA REGIÓN 5'UTR DEL mRNA COMPLETO DEL VIRUS DEL TUMOR MAMARIO MURINO** (Identification of an IRES element in the mRNA of murine mammary tumor virus) **Vallejos, M.¹**, Ramdohr, P.¹, Tapia, K.¹, Valiente-Echeverría, F.¹, López-Lastra, M.¹. Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹.

15:00-17:00

COMUNICACIONES LIBRES II

Sala 1

SEÑALIZACIÓN CELULAR Y REGULACIÓN METABÓLICA

Presidente: Sergio Lavandero

Secretaria: María Victoria Hinrichs

- 15:00 **CA²⁺ MEDIA LA INCORPORACIÓN DE GLUCOSA ESTIMULADA POR INSULINA EN CARDIOMIOCITOS Y L6GLUT4MYC** (Ca²⁺ mediates insulin-stimulated glucose uptake in cardiac myocytes and L6GLUT4myc) **Contreras-Ferrat, A.¹**, Jaimovich, E.¹, Klip, A.², Lavandero, S.¹. FONDAF CEMC, Universidad de Chile¹, The Hospital for Sick Children, Toronto, ON, Canada².

- 15:15 **RIC-8B ES TRANSLOCADO DESDE EL CITOSOL A LA MEMBRANA PLASMÁTICA EN RESPUESTA A ISOPROTERENOL Y CARBACOL** (RIC-8B is translocated from the cytosol to the plasma membrane in response to isoproterenol and carbachol) **Pasten, P.**¹, Olate, J.¹, Hinrichs, M.V.¹. Laboratorio de Genética Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica.¹
- 15:30 **NUEVAS ACCIONES DE ALDOSTERONA EN CÉLULAS MONONUCLEARES** (New actions of aldosterone in mononuclear cells) **Díaz-Elizondo, J.**¹, Olea-Azar, C.^{2,3}, Lavandero, S.¹, Michea, L.^{4,5}. Centro FONDAPECEM. Facultades de Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Medicina, Universidad de Chile¹, Facultades de Ciencias Químicas y Farmacéuticas², Universidad de Chile³, Centro FONDAPECEM. Facultades de⁴, Medicina, Universidad de Chile⁵.
- 15:45 **PRIVACIÓN DE GLUCOSA ACTIVA DIVERSAS FORMAS DE AUTOFAGIA EN EL CARDIOMIOCITO** (Different types of autophagy are activated in glucose-deprived cardiomyocytes) **Toro, B.**¹, Rodríguez, A.¹, Troncoso, R.¹, Cuervo, A.M.², Lavandero, S.¹. Centro FONDAPECEM, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile¹, Albert Einstein College of Medicine, NY, USA².
- 16:00 **NAD(P)H OXIDASA ESTA INVOLUCRADA EN EL AUMENTO DE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE hCAT-1 POR D-GLUCOSA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO** (NADPH oxidase is involved in the increased expression and activity of hCAT-1 by D-glucose in human fetal endothelium) **González, M.**¹, Sobrevia, L.¹. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Patrocinante: Lopez-Lastra, M.
- 16:15 **REGULACIÓN DEL METABOLISMO ENERGÉTICO CARDIACO POR INSULINA Y SU RELACIÓN CON FUSIÓN Y FISIÓN MITOCONDRIAL** (Regulation of cardiac energetic metabolism by insulin and its relationship with mitochondrial fusion and fission) **Parra, V.**¹, Morales, C.¹, Eisner, V.¹, Zorzano, A.², Lavandero, S.¹. Centro FONDAPECEM, Universidad de Chile, Chile.¹, Instituto de Investigación Biomédica, Barcelona, España.²
- 16:30 **INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE CK1 α POR AUTOFOSFORILACIÓN EN SU EXTREMO C-TERMINAL.** (The Inhibition of Enzymatic Activity of CK1 α by C-terminal Autophosphorylation) **Budini, M.**¹, Jacob, G.¹, Jedlicki, A.¹, Allende, J.E.¹. ICBM, Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.¹ Patrocinante: Jacob, G.
- 16:45 **DEGRADACIÓN DEL RECEPTOR DE RYANODINA TIPO 2 EN CULTIVOS DE CARDIOMIOCITOS** (Degradation of RyR2 in cultured cardiomyocytes) **Pedrozo, Z.**^{1,2}, Sánchez, G.^{2,3}, Fernández, C.¹, Donoso, P.^{1,2}, Lavandero, S.^{2,4}. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹, Centro FONDAPECEM, Universidad de Chile², Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile³, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile⁴.

17:15-19:00

SIMPOSIO I
Sala A

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE RNAs EN EUKARIONTES

Coordinador: Marcelo López-Lastra

- 17:15 **MAMMALIAN SELENOPROTEIN SYNTHESIS: TRANSLATIONAL RECODING OF UGA AS SELENOCYSTEINE** (Mammalian selenoprotein synthesis: translational recoding of UGA as selenocysteine) **Chavatte, L.**¹. Centre de Génétique Moléculaire (CGM-UPR2167) Gif sur Yvette-France.¹
- 17:50 **HCV IRES RELIES ON PRIMARY SEQUENCE AND STRUCTURE FOR DRIVING TRANSLATION INITIATION.** (HCV IRES relies on primary sequence and structure for driving translation initiation.) **Barría, M.I.**¹, **Gonzalez, A.**², **Vera-Otarola, J.**¹, **León, U.**¹, **Vollrath, V.**¹, **Marsac, D.**¹, **Pérez-Arce, T.**², **Monasterio, O.**³, **Soza, A.**⁴, **López-Lastra, M.**¹. Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹, Centro de Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.², Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.³, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.⁴.
- 18:25 **MOLECULAR MECHANISM OF HIV-2 GENOMIC RNA TRANSLATION INITIATION** (Molecular Mechanism of HIV-2 Genomic RNA Translation Initiation) **Locker N, J.L.**¹, **Sargueil, B.**¹. CNRS, UMR 8015, Faculté de pharmacie, 4 avenue de l'observatoire 75270 Paris cedex 06¹.

19:00-19:30

CAFÉ

19:30-20:45

CONFERENCIA INAUGURAL
Sala A

RNA CHAPERONES, THE AIDS VIRUS AND THE PEOPLE (RNA chaperones, the AIDS virus and the people) **Darlix, J.**¹, **Gabus-Darlax, C.**¹. LaboRetro, Unité de Virologie Humaine INSERM, IFR 128, ENS LYON, 46 Allée d'Italie, 69364 Lyon, France¹.

Presenta: Xavier Jordana

20:45

CÓCTEL DE BIENVENIDA

21:30

CENA

MIÉRCOLES 24 DE SEPTIEMBRE

9:00-11:00

COMUNICACIONES LIBRES III
Sala A

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS

Presidente: Victoria Guixé
Secretaria: Elena Uribe

- 09:00 **EL SECRETOMA DE *Penicillium purpurogenum*: ANALISIS POR ELECTROFORESIS BIDIMENSIONAL ACOPLADO A ESPECTROMETRIA DE MASAS** (The secretome from *Penicillium purpurogenum*: analysis by two-dimensional electrophoresis coupled to mass spectrometry) Navarrete, M.¹, Callegari, E.², Zhang, M.³, Black, G.³, Eyzaguirre, J.¹ Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago.¹, Universidad de Dakota del Sur, Vermillion, SD, U.S.A.², Universidad de Northumbria, Newcastle, Inglaterra.³
- 09:15 **MAPEO COMPARATIVO DE GRUPOS FUNCIONALES EN PROTEÍNAS DE FUSIÓN VIRAL CLASE II** (Comparative functional group mapping of Class II viral fusion proteins) Lagos, C.F.¹, Huenchunir, P.², López-Lastra, M.³, Pérez-Acle, T.^{1,4}. Centro de Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC¹, Laboratorio de Química Médica, Facultad de Química, PUC², Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, PUC³, Fundación Ciencia para la Vida⁴.
- 09:30 **ROL DE RESIDUOS BASICOS EN EL SENSADO DE PH EN LOS CANALES TASK2 Y TASK3** (Role of basic residues in pH sensing of Task2 and Task3 channels) Sepulveda, F.¹, González-Nilo, F.², Navarro, C.², Chipot, C.³, Niemeyer, M.I.⁴. CECS, Valdivia¹, CBSM, Universidad de Talca², CNRS/UHP, Francia³, CECS, Valdivia⁴.
- 09:45 **DIFERENCIAS DE LA UNIDAD SENSORA DEL PH EXTRACELULAR ENTRE LOS CANALES DE ENTRADA DE POTASIO PRESENTES EN LOS ESTOMAS.** (Differences in extracellular pH sensor units between the stomatal inward potassium channels) González, W.¹, Morales, S.¹, Alzate, J.¹, González-Nilo, F.D.¹, Dreyer, I.². Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca¹, Universität Potsdam, Institut für Biochemie und Biologie, Heisenberg-Gruppe Biophysik und Molekulare Pflanzenbiologie, Germany.²
- 10:00 **ESTUDIOS *in silico* E *in vitro* DEL DESPLEGAMIENTO TÉRMICO DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *Escherichia coli*. IMPORTANCIA DE LA INTERFAZ MONÓMERO-MONÓMERO.** (*In silico* and *in vitro* studies of the thermal unfolding of phosphofructokinase-2 from *Escherichia coli*: importance of the monomer-monomer interface.) Merino, F.¹, Baez, M.¹, Babul, J.¹. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

- 10:15 **UNIÓN DE METALES DIVALENTES EN FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. ESTUDIOS CINÉTICOS Y DE EPR.** (Binding of divalent metals in phosphofructokinase-2 from *E. coli*. Kinetic and EPR studies) **Rivas-Pardo, J.A.¹**, Wilson, C.A.M.¹, Caniuguir, A.¹, Guixé, V.¹. Laboratorio de bioquímica y biología molecular, departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.
- 10:30 **ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN DEL ASA FLEXIBLE DE LA INTEGRASA DE M-MuLV POR MUTAGENESIS.** (Analysis of the function of the flexible loop of M-MuLV integrase by mutagenesis.) **Acevedo, M.L.¹**, León, O.¹. Laboratorio de Retrovirus, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹.
- 10:45 **EFFECTO DEL PH EN EL ESTADO DE OLIGOMERIZACIÓN DE INSULINA.** (pH effects in oligomerization state of Insulin) **Cifuentes-Huerta, J.j.¹**, Martínez-Oyanedel, J.¹. Universidad de Concepción¹.

9:00-11:00

COMUNICACIONES LIBRES IV

Sala 1

EXPRESIÓN GÉNICA

Presidente: Loreto Holuigue

Secretario: José Leonardo Gutiérrez

- 09:00 **ANÁLISIS GENÓMICO DE LA FAMILIA SDG Y SU EXPRESIÓN EN EL DESARROLLO DEL FRUTO EN *Vitis vinifera*** (Genomic analysis of SDG family and its expression during grape development in *Vitis vinifera*) **Aquea, F.¹**, Vega, A.¹, Arce-Johnson, P.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile¹.
- 09:15 **ANÁLISIS FUNCIONAL DEL PROMOTOR DEL GEN *GRXC9* DE ARABIDOPSIS** (Functional Promoter Analysis of *GRXC9* Gene In Arabidopsis) **Herrera, A.¹**, Blanco, F.¹, Holuigue, L.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.¹
- 09:30 **REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL DE *NURR1* POR SUMOILACIÓN Y LA PROTEÍNA DJ-1** (Regulation of the transcriptional activity of *Nurr1* by sumoylation and the protein DJ-1) **Arredondo, C.¹**, Pereira, L.¹, Fuenzalida, N.¹, Andrés, M.E.¹. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.
- 09:45 **REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE GENES DE DIFERENCIACIÓN MIOBLÁSTICA Y OSTEÓBLÁSTICA POR ACETILACIÓN DE HISTONAS** ((Transcriptional regulation of myoblastic and osteoblastic differentiation genes by histone acetylation).) **Cruzat, F.¹**, Henríquez, B.¹, Sepulveda, H.¹, Olate, J.¹, Montecino, M.¹. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.¹

- 10:00 **HIPERMETILACIÓN DEL PROMOTOR DE BRCA1 SE CORRELACIONA CON LA AUSENCIA DE SU EXPRESIÓN EN TUMORES DE CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO.** (Promoter hypermethylation of BRCA1 correlates with absence of expression in hereditary breast cancer tumors) **Tapia, T.¹, Smalley, S.¹, Kohen, P.², Muñoz, A.², Solís, L.³, Corvalán, A.³, Faundez, P.¹, Devoto, L.², Camus, M.⁴, Álvarez, M.⁴, Carvallo, P.¹.** Departamento Biología Celular y Molecular, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹, Instituto Investigaciones Materno Infantil, Universidad de Chile.², Facultad Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.³, Centro de Cáncer, Pontificia Universidad Católica de Chile.⁴.
- 10:15 **EFFECTO DEL HIERRO EN LA EXPRESION DE LAS FERROXIDASAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA DE LAS OXIDASAS MULTICOBRE (MCO) DEL HONGO LIGNINOLITICO PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM.** (Effect of iron on the expression of ferroxidases belonging to multicopper oxidase family (MCO) from the ligninolytic fungus *Phanerochaete chrysosporium*) **Canessa, P.¹, Larrondo, L.¹, Vicuña, R.¹.** Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Univ. Católica de Chile.¹.
- 10:30 **ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN EMBRIONES BOVINOS CLONADOS TRANSFERIDOS A RECEPTORAS TEMPORALES** (Gene expression in cloned embryos transferred to temporary recipients) **Bertin Benavides, A.¹, Rodríguez, L.¹, Navarrete, F.¹, Castro, F.¹.** Universidad de Concepción¹. Patrocinante: Puchi Thiele, M.
- 10:45 **EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES DEL HONGO *Penicillium purpurogenum* CRECIDO EN GLUCOSA Y UNA FUENTE DE CARBONO NATURAL, COSETA DE REMOLACHA** (Differential expression of genes of the fungus *Penicillium purpurogenum* grown in glucose and a natural carbon source, sugar beet pulp) **Klagges, C.¹, Eyzaguirre, J.¹.** Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago.¹.

11:00-11:30

CAFÉ

11:30-12:45

CONFERENCIA SEVERO OCHOA

Sala A

BÚSQUEDA DE CLAVES ESENCIALES PARA LA ASIMILACIÓN DE NITRATO EN PLANTAS CON UN ALGA VERDE (Searching for essential keys in nitrate assimilation of plants with a green alga) **Fernández, E.¹, Galván, A.¹, Llamas, A.¹, Tejada-Jiménez, M.¹, Higuera, J.J.¹, González-Ballester, D.¹, de Montaigu, A.¹, Sanz-Luque, E.¹.** Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edif. Severo Ochoa, 14071-Córdoba, Spain¹.

Presenta: Juan Olate

13:00- 14:30

ALMUERZO

14:30-16:30

PANELES SESIÓN I

16:30-18:15

SIMPOSIO II

Sala A

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES: ACCIONES NO GENÓMICAS DE ESTEROIDES

Coordinador: Juan Olate

- 16:30 **COMO LOS RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G Y RECEPTORES ESTEROIDALES REGULAN LA MEIOSIS** (How G Protein-Coupled and Steroid Receptors Regulate Meiosis) Hammes, S.¹. Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX, USA.¹.
- 17:05 **EL RECEPTOR CLÁSICO DE PROGESTERONA XPR SE ASOCIA A LA MEMBRANA PLASMÁTICA A TRAVÉS DE SU DOMINIO DE UNIÓN A LIGANDO E INTERACCIONA CON G $\beta\gamma$** (The Classic Xenopus laevis Progesterone Receptor Associates to the Plasma Membrane through its Ligand Binding Domain and Interacts with G $\beta\gamma$) Olate, J.¹, Martínez, S.¹, Montecino, M.¹, Hinrichs, M.V.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.¹.
- 17:40 **VÍAS DE SEÑALIZACIÓN INTRACELULARES PARA RECEPTORES DE ANDRÓGENO: UN MODELO INTEGRADO PARA LA HIPERTROFIA CARDÍACA** (Androgens and androgen receptor intracellular signaling pathways: An integrated model for cardiac hypertrophy) Estrada, M.¹. ICBM, FONDAPE, Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.¹.

18:15-18:45

CAFÉ

18:45-20:30

SIMPOSIO III

Sala A

QUORUM SENSING Y BIOFILMS

Coordinador: Nicolás Guillani

- 18:45 **BIOPELÍCULAS Y QUORUM SENSING EN MICROORGANISMOS BIOMINEROS: REALIDAD Y DESAFÍOS** (Biofilms and Quorum Sensing in Biominer Microorganisms: Realities and Challenges) Guillani, N.¹. Unidad de Comunicación Bacteriana, Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Molecular, Departamento de Biología, Instituto de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile.¹.

19:20 **CONTROL DE BIOPELÍCULAS MICROBIANAS POR METABOLITOS SECUNDARIOS DE LA FLORA NATIVA CHILENA** (Control de biopelículas microbianas por metabolitos secundarios de la flora nativa chilena) **Urrutia B, H.**¹. Laboratorio e Biopelículas y Microbiología Ambiental, Departamento de Microbiología/Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Casilla 160-c, fono: 041 2204249, email: hurrutia@udec.cl¹.

19:55 **SOCIOMICROBIOLOGY: A NEW TWIST ON QUORUM SENSING SIGNALS THAT COORDINATE GENE EXPRESSION IN BACTERIAL POPULATIONS** (Sociomicrobiology: A new twist on quorum sensing signals that coordinate gene expression in bacterial populations) **Greenberg, E.P.**¹. Department of Microbiology, University of Washington, Seattle, USA¹.

21:00 CENA

JUEVES 25 DE SEPTIEMBRE

9:00-11:00 COMUNICACIONES LIBRES V
Sala A

BIOMEDICINA

Presidente: María Antonieta Valenzuela
Secretaria: Leda Guzmán

09:00 **EXPLORANDO UN MÉTODO ALTERNATIVO DE DIAGNOSTICO DE CÁNCER VESICAL BASADO EN LA DETECCIÓN DIFERENCIAL DE RNAs MITOCONDRIALES NO CODIFICANTES** (Exploring an alternative method of bladder cancer diagnosis based in the differential expression of non coding mitochondrial RNAs) **Rivas, A.**¹, **Landerer, E.**^{1,2,3}, **López, C.**^{2,3}, **Burzio, V.**^{1,2,3}, **Burzio, L.**^{1,2,3,4}, **Villegas, J.**^{1,2,3,4}. Fundación Ciencia Para la Vida¹, Instituto Milenio (MIFAB)², Universidad Andrés Bello³, Grupo BIOS⁴.

09:15 **LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE UNA NOVEDOSA FAMILIA DE RNAs MITOCONDRIALES NO CODIFICANTES PARA EL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER PROSTÁTICO** (The differential expression of a novel family of non coding mitochondrial RNAs for the diagnosis of prostate cancer) **Landerer, E.**^{1,2,3}, **Rivas, A.**¹, **Burzio, V.**^{1,2,3}, **Burzio, L.**^{1,2,3,4}, **Villegas, J.**^{1,2,3,4}. Fundación Ciencia para la Vida¹, Instituto Milenio MIFAB², Facultad de Ciencias de la Salud, UNAB³, Grupo BIOS⁴.

09:30 **ANÁLISIS GENÉTICO Y GENÓMICO EN TUMORES DESMOIDES DE PACIENTES CON POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR: COMPARACION CON EL CÁNCER COLORRECTAL** (Genetic and genomic analysis in desmoid tumors from patients with familial adenomatous polyposis: a comparison with colorectal cancer)

Alvarez, K.^{1,2}, **Orellana, P.**^{1,2}, **De la Fuente, M.**^{1,2}, **Wielandt, A.M.**^{1,2}, **Oyarzo, M.**³, **Church, J.**⁴, **López-Kostner, F.**¹, **Carvalho, P.**². Unidad de Coloproctología, Clínica Las Condes¹, Departamento de Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile², Departamento Anatomía Patológica, Clínica Alemana³, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland-Ohio, USA⁴.

- 09:45 ALTERACIONES GENÓMICAS EN TUMORES DE CÁNCER DE MAMA: ANÁLISIS POR MICROARREGLOS DE DNA** (Genomic profile of breast cancer tumors: an array-CGH analysis) **Hurtado, C.**¹, **Alvarez, C.**¹, **Solis, L.**², **Henriquez, I.**², **Corvalán, A.**², **Alvarez, M.**³, **Rozenblum, E.**⁴, **Munroe, D.**⁴, **Carvalho, P.**¹. Depto. Biología Celular y Molecular, Fac. Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile², Centro de Cáncer, Fac. Medicina, P. Universidad Católica de Chile³, Lab. Mol. Technology, SAIC-Frederick, NCI-Frederick, USA⁴.
- 10:00 CONCERTACIÓN ENTRE MUERTE CELULAR TIPO I Y II EN CÉLULAS TUMORALES AL INTERFERIR CON EL RNA MITOCONDRIAL NO-CODIFICANTE ANTISENTIDO (RNAm_{ntc})** (Cross-talk between cell death type I and II of tumor cells by interference of antisense non-coding mitochondrial RNA (ncmtRNA)) **Vidaurre, S.**¹, **Burzio, V.**¹, **Villegas, J.**¹, **Burzio, L.**¹. Fundación Ciencia Para La Vida, MIFAB, GRUPOBIOS, UNAB¹.
- 10:15 DETECCIÓN PRECOZ DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO ASOCIADO A LA INFECCIÓN DE HPV** (early detection of cervix cancer associated to the HPV infection) **Villota, C.**¹, **Villa, I.**², **Boccardo, E.**², **Gaete, F.**³, **Burzio, L.**¹. Fundación Ciencia para la Vida¹, Ludwig Institute for Cancer Research², Hospital Luis Tizne³.
- 10:30 LINFOCITOS INFECTADOS CON VIRUS HTLV-1 PRODUCEN CAMBIOS EN EL CITOESQUELETO NEURÍTICO DE CÉLULAS PC12** (HTLV-I infected lymphocytes produce changes in the neuritic cytoskeleton of PC12 cells) **Pando, M.E.**¹, **Kettlun, A.M.**¹, **Maldonado, H.**¹, **Ramirez, E.**², **Cartier, L.**³, **Alberti, C.**¹, **Escudero, C.**⁴, **Collados, L.**¹, **Valenzuela, M.A.**¹. Depto Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.¹, Programa de Virología, Facultad Medicina, Universidad de Chile. ISP², Depto Ciencias Neurológicas, Facultad Medicina³, Depto Fisiología, Fac Ciencias Biológicas, PUC⁴.
- 10:45 EL VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL INHIBE LA ACTIVACION DE LINFOCITOS T MEDIANTE INTERFERENCIA DE LA SINAPSIS INMUNOLOGICA CON CELULAS DENDRITICAS** (Respiratory Syncytial Virus Impairs T Cell Activation By Preventing Synapse Assembly With Dendritic Cells) **González, P.A.**¹, **Prado, C.E.**¹, **Leiva, E.D.**¹, **Carreño, L.J.**¹, **Bueno, S.M.**¹, **Riedel, C.A.**², **Kalergis, A.M.**^{1,3}. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello², Departamento de Reumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile³.

9:00-11:00

COMUNICACIONES LIBRES VI
Sala 1

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE PLANTAS

Presidente: Patricio Arce
Secretario: José Casaretto

- 09:00 **ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE TRANSPORTADORES DE BORO EN FRUTALES** (Structural and functional analysis of boron transporter in fruit crops) **Cañon, P.¹, Aquea, F.¹, Rodriguez, A.¹, Bisquertt, A.¹, Arce-Johnson, P.¹.** Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile¹.
- 09:15 **CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DEL GEN VvZIP INVOLUCRADO EN TRANSPORTE DE ZINC EN BAYAS DE *Vitis vinifera* CV. CARMENERE.** (Structural and functional characterization of the gen VvZIP involved in zinc transport in grapes of *Vitis vinifera* cv. Carmenere) **Gainza, F.I.¹, Pérez, R.¹, González, E.¹, Ruiz-Lara, S.¹.** Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca¹.
- 09:30 **UNA MUTANTE EN LA UGGT DE ARABIDOPSIS THALIANA, UNA ENZIMA CLAVE EN CONTROL DE CALIDAD EN RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO, MUESTRA ALTERACIONES MORFOLÓGICAS.** (An *Arabidopsis thaliana* mutant in the UGGT, a key enzyme in quality control at the endoplasmic reticulum, shows morphological alterations.) **Tapia, R.¹, Reyes, F.¹, Orellana, A.¹.** Universidad Nacional Andrés Bello¹.
- 09:45 **EFFECTO DEL ETILENO EN LA FORMACIÓN DE AROMAS Y ALCOHOL ACIL TRANSFERASA EN PERAS PACKHAM'S TRIUMPH** (Effect of ethylene on aroma formation and alcohol acyl transferase in Packham's Triumph pears) **Fuentes, L.¹, Valdenegro, M.¹, Herrera, R.¹, Moya-León, M.¹.** Laboratorio de Fisiología Vegetal, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹
- 10:00 **DEFICIENCIA EN LA FUNCIÓN DEL COMPLEJO II MITOCONDRIAL PRODUCE UN AUMENTO DE LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA EN *Arabidopsis thaliana*** (Impairment in mitochondrial complex II produces an increase of photosynthetic activity in *Arabidopsis thaliana*) **Fuentes, D.^{1,2}, Nunes-Nesi, A.², Araujo, W.², Gómez, I.¹, Fernie, A.², Jordana, X.¹.** Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹, Max Planck Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Alemania².
- 10:15 **EL GEN LOCHI CODIFICA PARA UNA ENDOQUITINASA DE CLASE III QUE ES EXPRESADO ESPECÍFICAMENTE EN RAÍCES Y NÓDULOS DE LOTUS SP. E INDUCIDO POR EFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO.** (LoChi gen coding for Class III endochitinase that is specifically expressed in roots and nodules of Lotus sp. and is induced by effect of water deficit.) **Tapia, G.¹, Acuña, H.¹.** Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA-Quilamapu¹. Patrocinante: Ruiz-Lara, S.

10:30 **ANÁLISIS FUNCIONAL DE UNA PROTEÍNA TIPO LECTINA (LLP) INDUCIDA POR ÁCIDO SALICÍLICO EN LA RESPUESTA DE DEFENSA A ESTRÉS EN ARABIDOPSIS** (Functional analysis of a SA-inducible lectin like protein (LLP) in the stress defense response in Arabidopsis) **Armijo, G.¹, Salinas, P.¹, Leiva, D.¹, Tapia, J.¹, León, L.¹, Holuigue, L.¹**. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹.

10:45 **ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA GLOBAL EN RESPUESTA A LA INFECCIÓN VIRAL DURANTE EL PROCESO DE MADURACIÓN EN *Vitis vinifera*** (Analysis of gene expression in response to viral infection through ripening in grape berries) **Vega, A.¹, Medina, C.¹, Arce-Johnson, P.¹**. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹.

11:00-11:30 CAFÉ

11:30-12:45 CONFERENCIA PABMB
Sala A

FORCE-CLAMP SPECTROSCOPY OF SINGLE PROTEINS (Force-clamp spectroscopy of single proteins) **Fernández, J.M.¹**. Columbia University, New York¹.

Presenta: José Martínez-Oyanedel

13:00- 14:30 ALMUERZO

14:30-16:30 PANELES SESIÓN II

16:30-18:15 SIMPOSIO IV
Sala A

INFERENCIA DE CONOCIMIENTO Y MINERÍA DE DATOS MEDIANTE BIOINFORMÁTICA: EJEMPLOS DE DESARROLLOS Y APLICACIONES

Coordinador: Francisco Melo

16:30 **POTENCIALES ESTADÍSTICOS: UNA PODEROSA HERRAMIENTA BIOINFORMÁTICA QUE PERMITE OBTENER BENEFICIOS DE LO ABUNDANTE, AL ELIMINAR LO REDUNDANTE Y EXTRAER LO RELEVANTE** (Statistical Potentials:

A Powerful Bioinformatic Tool That Generates Useful Information From The Abundant, By Eliminating The Redundant And Extracting The Relevant) **Melo, F.**¹, Slater, A.W.¹, Norambuena, T.¹, Martínez, P.¹, Pérez, N.¹, Castellanos, J.¹, Panjkovich, A.¹, Ferrada, E.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹

17:05 **MARCOS DE LECTURA ABIERTOS ALTERNATIVOS: UNA PESADILLA BIOINFORMATICA PERO UNA POTENCIAL MINA DE ORO PARA LA EVOLUCION DE GENES** (Alternate Open Reading Frames: A Bioinformatics Nightmare But A Potential Goldmine For Gene Evolution) **Holmes, D.S.**¹, Rivera, G.¹, Ossandón, F.¹. Center for Bioinformatics and Genome Biology (CBGB), Fundación Ciencia para la Vida (www.cienciavida.cl) and Depto. de Ciencias Biologicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Andres Bello.¹

17:40 **IDENTIFICACION Y LOCALIZACION DE LOS COMPONENTES CLAVES DEL SISTEMA DE ENDOMEMBRANAS DE EUCARIOTAS EN BACTERIAS COMPARTIMENTALIZADAS** (Identification And Localization Of Key Components Of The Eukaryotic Endomembrane System In Compartmentalized Bacteria) **Devos, D.**¹, Franke, J.², Chait, B.², Sali, A.³, Rout, M.². EMBL, Meyerhofstrasse 1, D-69117 Heidelberg, Germany.¹, Laboratory of Cellular and Structural Biology, The Rockefeller University, 1230 York Avenue, New York, NY 10021-6399, USA.², Departments of Biopharmaceutical Sciences and Pharmaceutical Chemistry, and California Institute for Quantitative Biomedical Research, UCSF, San Francisco, CA 94143-2552, USA.³

18:15-18:45 CAFÉ

18:45-20:00 CONFERENCIA OSVALDO CORI
Sala A

EL ACIDO SALICÍLICO EN LA RESPUESTA DE DEFENSA A ESTRÉS EN ARABIDOPSIS (Salicylic acid in the stress defense response in Arabidopsis) Blanco, F.¹, Laporte, D.¹, Armijo, G.¹, Herrera, A.¹, Merabachvili, G.¹, **Holuigue, L.**¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹.

Presenta: Luz María Pérez

20:00-20:30

CONFERENCIA CIENCIA DE FRONTERA
(ACADEMIA DE CIENCIAS)
Sala A

MAS ALLÁ DEL PLANETA TIERRA

Patricio Rojo, Universidad de Chile.

Presenta: Danilo González-Nilo

21:30

CENA Y FIESTA

VIERNES 26 DE SEPTIEMBRE

10:00-11:00

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN
Sala A

Presidente: Jaime Eyzaguirre

Secretario: Enrique González

10:00 **ANÁLISIS GENÓMICO FUNCIONAL DEL DESARROLLO DEL POLEN EN *Arabidopsis thaliana*** (Functional genomic analysis of pollen development in *Arabidopsis thaliana*)
León, G.¹. Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello¹.
Patrocinante: Jordana, X..

10:30 **IDENTIDAD DE ÓRGANOS FLORALES EN *Vitis vinifera*: CARACTERIZACIÓN DE UNA RED DE GENES INVOLUCRADOS** (Floral organ identity in *V. vinifera*: Characterization of a network of genes involved) **Poupin, M.J.**¹, Leiva-Ampuero, A.¹, Timmermann, T.¹, Dauelsberg, P.², Matus, J.T.², Arce-Johnson, P.¹. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Ciencias Biológicas. Depto. Genética Molecular y Microbiología.¹, Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Depto. Fruticultura y Enología.². Patrocinante: Arce-Johnson, P.

11:00-11:30

CAFÉ

11:30-12:30

MEDALLA HERMANN NIEMEYER

PREMIOS FERMELO-SBBM

Conferencias

CONFERENCIA INAUGURAL

RNA CHAPERONES, THE AIDS VIRUS AND THE PEOPLE.
Darlix, J.L.¹, Gabus-Darlix, C.¹. LaboRetro, Unité de Virologie Humaine INSERM, IFR 128, ENS LYON, 46 allée d'Italie, 69364 Lyon, France¹.

Recent intense biochemical and structural studies on the basic mechanisms of life have led to the emergence of two entirely novel concepts in biology, firstly the fact that a large number of proteins are intrinsically unstructured (IUP) and secondly that a class of nucleic acid binding proteins have potent crowding and chaperoning properties (RNA-CHAPERONES). Based on investigations on HIV, the causative agent of AIDS, the role of IUP's and RNA CHAPERONES will be illustrated. Results will be presented to illustrate how essential viral factors such as the Tat trans-activator and the structural NC proteins, that are both IUP's and RNA CHAPERONES, function in vitro and control virus replication from entry to particle production, dissemination and variability. Thus targeting Tat and NC by specific molecules should ensure a sustained high level inhibition of HIV replication in infected persons. Two such molecules have recently been discovered that target NC in infected cells in a highly specific manner with an IC50 of 0.2 nM. Based on these results, we should consider developing similar molecules targeting RNA-CHAPERONES essential for the replication of human pathogenic viruses and agents, such as HCV, HBV, WNV and the Prion. Work supported by INSERM, Europe, ANRS and Sidaction.

CONFERENCIA PABMB

FORCE-CLAMP SPECTROSCOPY OF SINGLE PROTEINS.
Fernandez, J.M.¹. Columbia University, New York¹.

We have developed single molecule AFM techniques to study how mechanical forces affect the dynamics and chemistry of proteins. Using molecular biological techniques, we engineer tandem modular proteins that are made of identical repeats of a protein of interest. These polyproteins act as handles for atomic force microscopes, without the need for linkers or special attachment chemistry. When such polyproteins are extended by an AFM, their force properties are unique mechanical fingerprints that unambiguously distinguish them from the more frequent non-specific events that plague single molecule studies. We combine polyprotein engineering together with active force-clamp AFM techniques. With this approach, the length of an extending polyprotein is measured while the pulling force is actively kept constant by negative feedback control. The force-clamp technique combined with polyprotein engineering has become a powerful approach to study proteins. We have investigated the force-dependency of protein folding, unfolding and of chemical reactions. From the force-dependence, we extract features of the transition state of these reactions that reveal underlying molecular mechanisms. Our data will help guide the development of new theories on areas such as the statistical dynamics of a folding polymer and ab-initio studies of a chemical reaction while placed under a stretching force. References: 1- Fernandez, J.M. and Li, H. B. Force-clamp spectroscopy monitors the folding trajectory of a single protein (2004), *Science*, 303: 1674-1678 2 - Wita et al. (2007) Probing the chemistry of thioredoxin catalysis with force. *Nature*, 450, 124-7.

CONFERENCIA SEVERO OCHOA

BÚSQUEDA DE CLAVES ESENCIALES PARA LA ASIMILACIÓN DE NITRATO EN PLANTAS CON UN ALGA VERDE (Searching for essential keys in nitrate assimilation of plants with a green alga)
Fernández, E.¹, Galván, A.¹, Llamas, A.¹, Tejada-Jiménez, M.¹, Higuera, J.J.¹, González-Ballester, D.¹, de Montaigu, A.¹, Sanz-Luque, E.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edif. Severo Ochoa, 14071-Córdoba, Spain¹.

Numerosos organismos, especialmente las plantas de cosecha, asimilan nitrato como la forma nitrogenada preferente. Así éstos han evolucionado utilizando una dosis específica de genes que aseguran una asimilación eficiente. La ruta de asimilación de nitrato es estructuralmente sencilla. El interés de la investigación en los mecanismos moleculares de este proceso ha cambiado desde los pasos de reducción, de nitrato a amonio y hasta su incorporación a esqueletos carbonados, a los de transporte. Más recientemente este interés ha pasado a los mecanismos reguladores de la ruta, positivo por nitrato y negativo por amonio y sus derivados. Al ser *Chlamydomonas* un alga unicelular, haploide, de genética relativamente fácil y genoma secuenciado, y filogenéticamente emparentado con plantas, estas tareas de identificación de elementos esenciales para la asimilación de nitrato se ven facilitadas. De esta forma, nuestro grupo ha podido identificar los transportadores de nitrato y nitrito de alta afinidad de la membrana plasmática como sistemas de uno y dos componentes, el transportador de nitrito al cloroplasto, y recientemente un transportador de molibdato, micronutriente esencial de esta ruta. Asimismo con objeto de determinar los factores transcripcionales reguladores, hemos generado una colección de 22000 mutantes insercionales que cubren la mayor parte del genoma y que están afectados en la señalización por nitrato o amonio. Así hemos identificado a NIT2 como factor transcripcional que media la señal de nitrato y diversos elementos para una regulación negativa compleja. Financiado MEC (BFU2005-07521) y Junta de Andalucía (CVI-1609).

CONFERENCIA OSVALDO CORI

EL ACIDO SALICÍLICO EN LA RESPUESTA DE DEFENSA A ESTRÉS EN ARABIDOPSIS (Salicylic acid in the stress defense response in *Arabidopsis*)
Blanco, F.¹, Laporte, D.¹, Armijo, G.¹, Herrera, A.¹, Merbachvili, G.¹, Holuigue, L.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹.

El ácido salicílico (SA) es una hormona clave para la activación de genes de respuesta a estrés biótico (patógenos) y abiótico en plantas. En nuestro grupo hemos identificado un grupo de 217 genes de respuesta temprana a SA, mediante el análisis del transcriptoma de *Arabidopsis* en respuesta a SA. El uso de una mutante en un coactivador maestro de la vía del SA (NPR1), nos permitió identificar dos vías de activación temprana de genes por SA, una dependiente y otra independiente de NPR1. Estos dos grupos de genes se diferencian en sus categorías funcionales, en la cinética de activación por SA y en la presencia de elementos regulatorios sobrerrepresentados en sus promotores. Mediante análisis de genómica funcional estamos evaluando la función de un par de estos genes en la respuesta de defensa a estrés. Para esto se obtuvieron y caracterizaron líneas mutantes y sobre-expresoras de los genes seleccionados y se evalúa el fenotipo de resistencia o tolerancia a estrés en estas líneas. En paralelo estudiamos el mecanismo de activación transcripcional de estos genes por SA, mediante análisis funcionales de sus promotores en líneas transgénicas de *Arabidopsis*. Estas estrategias nos permitirán identificar genes claves para la protección al estrés celular, así como determinar el mecanismo de su activación por SA. Financiado por FONDECYT-CONICYT (1060494) y Núcleo Milenio Genómica Funcional de Plantas (P06-009-F).

CONFERENCIA CIENCIA DE FRONTERA (ACADEMIA DE CIENCIAS)

MAS ALLÁ DEL PLANETA TIERRA (Mas Alla del Planeta Tierra)
Rojo, P.¹ Universidad de Chile¹

Nuestro planeta Tierra es el único cuerpo astronómico en el que estamos seguros que la vida se desarrolla y prospera en abundancia. La mayoría de los otros cuerpos del Sistema Solar presentan, en forma evidente, su inhabilidad de mantener o desarrollar vida. Sin embargo, nuevos descubrimientos sugieren que en ciertos lugares de estos mundos, aparentemente inhóspitos, se podrían tener las condiciones básicas en las que algunos organismos podrían prosperar. Además de resumir los descubrimientos más relevantes en el Sistema Solar, en esta charla también hablaré de los descubrimientos más importantes en el área de planetas extrasolares. Esta área se estableció tan solo a mediados de los noventa, con el descubrimiento del primer planeta en torno a una estrella madura. Desde entonces, esta área ha tenido un crecimiento explosivo y muchos de sus inesperados descubrimientos lograron derrumbar viejas teorías e hicieron surgir nuevas ideas. Pero quizá más importante, nos ha permitido tener, hoy en día, una mejor idea de qué esperar de otros mundos.

Simposios

SIMPOSIO I: REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE RNAs EN EUKARIONTES

MAMMALIAN SELENOPROTEIN SYNTHESIS: TRANSLATIONAL RECODING OF UGA AS SELENOCYSTEINE

(Mammalian selenoprotein synthesis: translational recoding of UGA as selenocysteine) **Chavatte, L.**¹. Centre de Génétique Moléculaire (CGM-UPR2167) Gif sur Yvette-France.¹

Selenium is an essential trace element, which is co-translationally incorporated into twenty five selenoproteins in human as selenocysteine (Sec), the 21st amino acid. Selenoproteins synthesis follows a remarkable mechanism which involves translational recoding of a UGA codon, normally used as a stop signal, into a selenocysteine insertion signal. In eukaryotes, a specific secondary structure in the 3'UTR of the selenoprotein mRNA (named SECIS) is required to direct faithful recoding. Several components of the eukaryotic Sec insertion machinery have been characterized so far: a Sec-tRNA^{Sec}, an elongation factor EF-Sec, and two SECIS binding proteins (SBP2 and ribosomal protein L30). In our model, SBP2 and L30 perform different functions in the UGA recoding mechanism, with the SECIS acting as a molecular switch characterized by a conformational transition upon protein binding. Our data indicate that the nature of the SECIS acts at the translational level to modulate selenoprotein expression, which is highly tuned in mammalian cells. To define the precise determinants of the SECIS element on UGA/Sec recoding activity, we have used a luciferase-based reporter gene system in transfected cells and in *in vitro* translation. Using this system, we have showed that human SECIS can be classified into weak, moderate and strong elements for Sec insertion efficiency. Within the SECIS, we have identified the structural determinants responsible for positive and negative regulation of UGA recoding efficiency in cells and *in vitro*. Functional implications of these structural determinants will be analysed and discussed.

HCV IRES RELIES ON PRIMARY SEQUENCE AND STRUCTURE FOR DRIVING TRANSLATION INITIATION.

(HCV IRES relies on primary sequence and structure for driving translation initiation.) Barria, M.I.¹, Gonzalez, A.², Vera-Otarola, J.¹, León, U.¹, Vollrath, V.¹, Marsac, D.¹, Pérez-Arce, T.², Monasterio, O.³, Soza, A.⁴, **López-Lastra, M.**¹. Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹, Centro de Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile², Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile³, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.⁴

The HCV internal ribosome entry site (IRES) spans a region of approximately 340 nt that encompasses most of the 5' untranslated region (UTR) of the viral mRNA and the first 24-40 nt of the coding region. To investigate the effects of alterations to the primary sequence of the 5'UTR on IRES activity naturally occurring mutations were identified and their effect on translation initiation was evaluated in the context of RLuc/FLuc bicistronic RNAs. Results show that depending on their location within the RNA structure, mutations cause a range of effects on IRES activity. However, mutations within the IRES IIIId subdomain totally abolish HCV IRES activity. In an attempt to explain these observations the dynamic behavior of IRES IIIId subdomain was analyzed by means of a 6-ns molecular dynamic simulation (MDS). Strikingly, and despite of the loss of function MDS analysis predicted that the G266A/G268U mutant exhibits structural conservation with respect to the wt-IRES. Validation of this prediction was obtained by analyzing the secondary structure of the isolated HCV IIIId RNAs by circular dichroism (CD) spectroscopy in presence or absence of Mg²⁺ ions. Results suggest that the primary sequence of subdomain IIIId plays a role, and is required, for IRES-mediated translation initiation. Together results confirm the stringent structure/function relationship exhibited by the HCV IRES, but also suggest that the primary sequence of subdomain IIIId plays a role, and is required, for IRES-mediated translation initiation.

MOLECULAR MECHANISM OF HIV-2 GENOMIC RNA TRANSLATION INITIATION

(Molecular Mechanism of HIV-2 Genomic RNA Translation Initiation) Locker N, J.L.¹, **Sarguelli, B.**¹. CNRS, UMR 8015, Faculté de pharmacie, 4 avenue de l'observatoire 75270 Paris cedex 06¹.

Translation of the HIV-2 genomic RNA results in the synthesis of a large polyprotein that is cleaved to yield structural proteins (Gag) and enzymes (Pol). Analysis of HIV-2 immature virion particles generated in protease inhibitors treated cells revealed the presence of three isoforms of the Gag polyprotein: the expected Gag p57 and two shorter isoforms of 50 and 44 kDa apparent molecular weight. We have previously shown that these three Gag isoforms are produced by an internal ribosomal entry site (IRES)-driven mechanism. The HIV-2 IRES element is located within the Gag coding region and downstream the first AUG. Moreover, it directs the translation of the three Gag isoforms with no need for upstream 5' untranslated RNA sequence and this IRES element can recruit three independent initiation complexes onto the gag mRNA.

The molecular mechanism by which such a peculiar initiation process occurs remains elusive. During internal ribosome entry, interaction between the IRES and the ribosome is mediated by eukaryotic initiation factors (eIF) that can be assisted by IRES transacting factors. To try and understand the molecular mechanisms involved in internal entry of the ribosome onto Gag genomic RNA we modelled the secondary structure of the coding region. To define the role of individual secondary structure elements, we introduced mutations disrupting the structure of the open reading frame. The mechanistic and physiological significance of those results will be discussed.

SIMPOSIO II: TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES: ACCIONES NO GENÓMICAS DE ESTEROIDES**COMO LOS RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G Y RECEPTORES ESTEROIDALES REGULAN LA MEIOSIS** (How G Protein-Coupled and Steroid Receptors Regulate Meiosis)

Hammes, S.¹ Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX, USA¹

Classical steroid receptors mediate many transcription-independent (nongenomic) steroid responses in vitro. A major problem in this field has been to justify the biological significance of these nongenomic processes, since dissecting the relative importance of genomic versus nongenomic steroid receptor-mediated signaling is difficult. To circumvent these concerns, our laboratory studies the biologically important and accepted transcription-independent process of steroid-induced maturation, or meiotic resumption. Using *Xenopus laevis* oocytes, we have shown that 1) *Xenopus* oocytes are held in meiotic arrest by constitutive $G_{\alpha s}$ and $G\beta\gamma$ signaling that raises intracellular cAMP levels; 2) this constitutive G protein signaling is regulated in part by the G protein-coupled receptor, GPR3; 3) androgens are critical in-vivo regulators of oocyte maturation, signaling via classical androgen receptors; 4) androgens and progestins rapidly suppress the constitutive inhibitory G protein signaling in a **Release of Inhibition** fashion to promote meiotic progression; and 5) the scaffold molecule termed MNAR (Modulator of Nongenomic Actions of steroid Receptors) regulates the cross-talk between classical steroid receptors and G proteins. Finally, we have demonstrated that steroids can similarly promote mouse oocyte maturation independent of transcription, suggesting that the process of nongenomic steroid-triggered maturation is conserved from lower to higher vertebrates.

EL RECEPTOR CLÁSICO DE PROGESTERONA XPR SE ASOCIA A LA MEMBRANA PLASMÁTICA A TRAVÉS DE SU DOMINIO DE UNIÓN A LIGANDO E INTERACCIONA CON $G\beta\gamma$

(The Classic *Xenopus laevis* Progesterone Receptor Associates to the Plasma Membrane through its Ligand Binding Domain and Interacts with $G\beta\gamma$) **Olate, J.**¹, Martínez, S.¹, Montecino, M.¹, Hinrichs, M.V.¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.¹

During the last decade, considerably experimental evidence has accumulated that supports the view that classical steroid receptors are mediating extra-nuclear actions in different systems and organisms. One of the best characterized examples is progesterone induced *Xenopus laevis* oocyte maturation. In this system, overexpression and depletion of classic progesterone receptor (xPR) have been shown to accelerate and to block progesterone-induced oocyte maturation respectively. In addition, rapid progesterone inhibition of adenylyl cyclase (AC) activity in isolated plasma membrane preparations supports the idea that xPR and signal $G_{\alpha s}$ -AC components should be localized at the oocyte plasma membrane. To test this hypothesis, we have cloned the oocyte AC which is activated by $G_{\alpha s}$ and $G\beta\gamma$ and studied its participation in the maturation process. In addition, we have transiently transfected the xPR cDNA into Cos-7 cells and analysed its subcellular distribution. Through western blot and immunofluorescence confocal microscopy analysis, we were able to detect xPR associated to the plasma membrane of transfected Cos-7 cells. We also expressed the N-terminal and ligand binding domain (LBD) of the receptor and found that only the LBD displayed membrane association, although the N-terminal domain was expressed in equal amounts. Progesterone-BSA-FITC binding studies shown specific steroid binding at the plasma membrane, suggesting that xPR-LBD is exposed on the outside of the cell. Finally, we used the Tandem Affinity Purification method (TAP-tag) and found $G\beta\gamma$ associated to xPR, which was corroborated in the *Xenopus laevis* oocyte by co-immunoprecipitation analysis.

VÍAS DE SEÑALIZACIÓN INTRACELULARES PARA RECEPTORES DE ANDRÓGENO: UN MODELO INTEGRADO PARA LA HIPERTROFIA CARDÍACA (Androgens and androgen receptor intracellular signaling pathways. An integrated model for cardiac hypertrophy)

Estrada, M.¹ ICBM, FONDAF, Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.¹

Despite advances in treatment, cardiovascular disease still is the number one cause of mortality and morbidity worldwide. Cardiac cells, not only must maintain an adequate balance under neuro-humoral stimulation, but this must then be modified and conditioned further by the cardiomyocytes to maintain normal homeostasis. Cardiac hypertrophy is produced in response to several physio-pathological conditions and is characterized by increases in cardiomyocyte size and protein synthesis, which is accompanied by a switch in the metabolic substrate utilized by the heart. Although initially adaptive, neuro-hormonal activation together with metabolic disturbs have deleterious effects on cardiovascular system. Abnormal cardiomyocytes functions result in cardiac hypertrophy, which is a cardinal manifestation of cardiovascular failure. Heart is a target tissue for anabolic steroids. Testosterone elicits significant cardiovascular effects, and abnormalities of plasma concentrations can cause cardiovascular disease. However, most evidence of the link between testosterone and metabolic actions is observational. Studies targeted at establishing such effects at cellular level and their correlations with in vivo models, will broaden our understanding of the roles played by these male steroid hormones on the cardiovascular system. In this talk, evidence for different signaling pathways activated by testosterone during the shift from normal to hypertrophy phenotype in cardiomyocytes will be discussed. We propose a basic model the homeostatic and hypertrophy mechanisms of steroids action in cardiac cells. Understanding hypertrophy mechanisms are particularly important as they relate to a variety of processes ranging from cell physiology to human cardiovascular disease.

SIMPOSIO III: QUORUM SENSING Y BIOFILMS

BIOPELÍCULAS Y QUORUM SENSING EN MICROORGANISMOS BIOMINEROS: REALIDAD Y DESAFÍOS

(Biofilms and Quorum Sensing in Biominer Microorganisms: Realities and Challenges) **Guiliani, N.**¹ Unidad de Comunicación Bacteriana, Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Molecular, Departamento de Biología, Instituto de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile.¹

La forma habitual de crecimiento de las bacterias en la naturaleza es bajo el estado de biopelículas o biofilms. Estas se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo. Las biopelículas han adquirido relevancia en diversos campos de investigación sea por su papel beneficioso o sea, al contrario, por su papel perjudicial. Las actividades metabólicas de las biopelículas conformadas por comunidades de procariontes extremófilas permite a la industria (bio)minera recuperar metales de alto valor agregado (cobre, oro, uranio, cobalto) desde mineral mediante el proceso de biolixiviación. No obstante estas mismas biopelículas son también responsables de las contaminaciones ambientales [Agua ácidas de drenaje de minas, (AMD)] generadas en sitios mineros desafectados o no. Aparece relevante, entonces, caracterizar los mecanismos moleculares involucrados en la formación de biopelículas en microorganismos biomineros para poder fomentar el proceso de biolixiviación o aminorar el daño ambiental de las AMDs. La comunicación bacteriana célula-célula o quorum sensing (QS) es una de las principales vías moleculares de regulación de la formación de biopelículas en bacterias Gram-negativas. Por eso, y con el desafío de generar nuevas estrategias biológicas que permitan regular la formación de biopelículas en bacterias biomineras, nos propusimos indagar si esta vía está presente en *Acidithiobacillus ferrooxidans* y otras bacterias biomineras.

CONTROL DE BIOPELÍCULAS MICROBIANAS POR METABOLITOS SECUNDARIOS DE LA FLORA NATIVA

CHILENA (Control de biopelículas microbianas por metabolitos secundarios de la flora nativa chilena) **Urrutia B, H.**¹ Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Departamento de Microbiología/Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Casilla 160-c, fono 041 2204249, email: hurrutia@udec.cl¹.

Una biopelícula es una agrupación o conglomerado de microorganismos que viven adheridos a superficies inertes o vivas, desarrollando su actividad inmersos en una matriz generada por ellos mismos y expresando un fenotipo propio. Constituyen el hábitat primario para muchos microorganismos, y tienen importancia económica en diversos ámbitos de las actividades humanas como medicina, ambiente, industria y agricultura. Las biopelículas bacterianas, que viven sobre vegetales terrestres, tienen un particular impacto ecológico y económico en la producción agroforestal. Su formación, es fundamental para el inicio de todo proceso fitopatogénico y aunque son, los causantes de más de dos mil tipos de infecciones y enfermedades de plantas aún no existen, en el mercado, biocidas ambientalmente amigables para controlar la adherencia de bacterias y hongos fitopatógenos. Como producto del trabajo en el área de interacción planta-microorganismo, en el LAB de Biopelículas y Microbiología Ambiental, (Centro de Biotecnología de la Universidad de Concepción) se han aislado y caracterizado químicamente algunos metabolitos secundarios extraíbles, desde plantas nativas (ecosistema de cordillera de la Costa VII y VIII regiones). Mediante ensayos que investigan la capacidad de formar Biopelículas (colony blotting) y la viabilidad fisiológica (yoduro propidio) se estudia el efecto de algunos extractos sobre la formación de biopelículas de *Pseudomonas syringae* DC300 y *Pseudomonas syringae* CC94. En aquellos extractos que han sido activos se ha comenzado a investigar mecanismos de acción, explorando interferencia con circuito QS mediante (mediante el uso de biosensores). INNOVA b1-04-321, DIUC 208.142.026-1.0.

SOCIOMICROBIOLOGY: A NEW TWIST ON QUORUM SENSING SIGNALS THAT COORDINATE GENE EXPRESSION IN BACTERIAL POPULATIONS

Greenberg, E.P.¹ Department of Microbiology, University of Washington, Seattle, USA¹.

Acyl-homoserine lactone (acyl-HSL) quorum-sensing systems have been found in over 60 bacterial species where they function as regulators of a range of phenotypes. The signals are fatty acyl-HSLs and the fatty acyl group determines specificity. Pairs of linked genes encode the signaling systems; an R receptor gene and an I signal synthase gene. The receptors function as signal-dependent transcription factors. The synthases use fatty acid biosynthesis intermediates and S-adenosylmethionine as substrates. We have recently discovered a signal synthase that utilizes an organic acid from the environment, the aromatic coumaric acid as a substrate for the synthesis of coumaryl-HSL. Coumaryl-HSL is detected by the cognate receptor protein and controls gene expression. We have discovered several bacterial species with coumaryl-HSL synthases. This represents a new breadth in the diversity of acyl-HSL signals. This discovery will be discussed within the context of bacterial social behavior.

SIMPOSIO IV: INFERENCIA DE CONOCIMIENTO Y MINERÍA DE DATOS MEDIANTE BIOINFORMÁTICA: EJEMPLOS DE DESARROLLOS Y APLICACIONES

POTENCIALES ESTADÍSTICOS: UNA PODEROSA HERRAMIENTA BIOINFORMÁTICA QUE PERMITE OBTENER BENEFICIOS DE LO ABUNDANTE, AL ELIMINAR LO REDUNDANTE Y EXTRAER LO RELEVANTE (Statistical Potentials: A Powerful Bioinformatic Tool That Generates Useful Information From The Abundant, By Eliminating The Redundant And Extracting The Relevant) **Melo, F.**¹, Slater, A.W.¹, Norambuena, T.¹, Martínez, P.¹, Pérez, N.¹, Castellanos, J.¹, Panjkovich, A.¹, Ferrada, E.¹ Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹

Los potenciales estadísticos constituyen una poderosa herramienta que permite la extracción de información útil acerca de un sistema complejo que sea estructurado y funcional. Ellos relacionan la probabilidad de ocurrencia de un estado discreto con una energía a través de la aplicación de la ley inversa de Boltzmann. Esta última, se encuentra a su vez estrechamente relacionada con conceptos de información y entropía propuestos por Shannon. Probabilidad, energía, información y entropía son conceptos altamente relacionados entre sí, los cuales en último grado confieren poder predictivo acerca de la condición estática o evolución dinámica de un sistema. En esta charla puntual del simposio, se describirá de manera muy simple en qué consisten y cómo se obtienen los potenciales estadísticos. La utilidad de los potenciales estadísticos será ejemplificada a través de la presentación de tres aplicaciones diferentes de éstos que se han estado desarrollando en los últimos años en nuestro laboratorio. Los ejemplos incluyen: 1) predicción de estructura y función de proteínas, 2) predicción de genes y 3) predicción de autoría de textos en disputa. Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1080158.

MARCOS DE LECTURA ABIERTOS ALTERNATIVOS: UNA PESADILLA BIOINFORMÁTICA PERO UN POTENCIAL MINA DE ORO PARA LA EVOLUCIÓN DE GENES (Alternate Open Reading Frames: A Bioinformatics Nightmare But A Potential Goldmine For Gene Evolution) **Holmes, D.S.**¹, Rivera, G.¹, Ossandón, F.¹ Center for Bioinformatics and Genome Biology (CBGB), Fundación Ciencia para la Vida (www.cienciavida.cl) and Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Andrés Bello.¹ Patrocinante: Melo, F.

Alternate open reading frames (ORFs) that generate overlapping genes have been well documented in viral genomes. However, few examples have been described in other organisms, prompting us to carry out a large scale, multi-genome survey of Bacteria and Archaea in a search for alternate ORFs that might be functional genes. Analysis of over 700 genomes (> 2 million genes) reveals that substantial alternate ORFs (>300 nucleotides without a stop codon) are surprisingly common, especially in G+C rich genomes. This talk will outline the discovery and interpretation of alternate ORFs and will describe a publicly available, searchable database (AlterORF, www.AlterORF.cl) of alternate ORFs. Many alternate ORFs do not encode proteins and can be misannotated as hypothetical genes exacerbating the so-called "orphan gene" problem and confounding the interpretation of genomes. AlterORF is helping to deparate these incorrect gene identifications. However, alternate ORFs also represent a rich source of potential coding information that can give rise to novel proteins when coupled to appropriate regulatory sequences and, as such, may represent an important contributor to gene evolution. Examples will be described of new genes that are hypothesized to have arisen from alternate ORFs. Funding: FONDECYT 1050063, DI-UNAB 3406-R, DI-02-08/I and a Microsoft Sponsored Research Award.

IDENTIFICACION Y LOCALIZACION DE LOS COMPONENTES CLAVES DEL SISTEMA DE ENDMEMBRANAS DE EUKARIOTAS EN BACTERIAS COMPARTIMENTALIZADAS (Identification And Localization Of Key Components Of The Eukaryotic Endomembrane System In Compartmentalized Bacteria) **Devos, D.**¹, Franke, J.², Chait, B.², Sali, A.³, Rout, M.² EMBL, Meyerhofstrasse 1, D-69117 Heidelberg, Germany.¹, Laboratory of Cellular and Structural Biology, The Rockefeller University, 1230 York Avenue, New York, NY 10021-6399, USA.², Departments of Biopharmaceutical Sciences and Pharmaceutical Chemistry, and California Institute for Quantitative Biomedical Research, UCSF, San Francisco, CA 94143-2552, USA.³ Patrocinante: Melo, F.

A major step in eukaryotic evolution was the development of compartmentalization. Sequence based searches are uninformative about the origin of the eukaryotic endomembrane system. Because structure is more conserved than sequence in evolution, we used structure based searches to identify prokaryotic contributions to the eukaryotic compartmentalization system. We have discovered a combination of fold types that is a signature of the eukaryotic endomembrane system in two compartmentalized bacteria from the Planctomycetes phylum, *Rhodopirellula baltica* and *Gemmata obscuriglobus*. Our analysis provides a molecular link between the eukaryotic and prokaryotic compartmentalization systems, supporting an autogenous model of eukaryotic evolution.

*Trabajos de
Incorporación*

**IDENTIDAD DE ÓRGANOS FLORALES EN *Vitis vinifera*:
CARACTERIZACIÓN DE UNA RED DE GENES INVOLUCRADOS**

(Floral organ identity in *V. vinifera*: Characterization of a network of genes involved) **Poupin, M.J.**¹, Leiva-Ampuero, A.¹, Timmermann, T.¹, Dauelsberg, P.², Matus, J.T.², Arce-Johnson, P.¹. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Ciencias Biológicas, Depto. Genética Molecular y Microbiología.¹, Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Depto. Fruticultura y Enología.² Patrocinante: Arce-Johnson, P.
La identidad de órganos florales es controlada por distintos genes, donde factores tipo MADS-box son protagónicos. Estos se clasifican en los subgrupos A, B y C, a partir de los cuales fue derivado el modelo actual de floración. Aunque este proceso es conservado, existen diferencias en el número de genes involucrados, sus regulaciones y funciones en las distintas especies. Este estudio presenta la caracterización de la clase B de genes MADS-box en *Vitis vinifera*, clase responsable de la formación de pétalos y estambres. Identificamos los genes *VvPSTILLATA*, *VvTM6* y *VvAPETALA3*. El análisis del genoma de la vid revela que sólo existirían estos genes en la clase y que se encontrarían en copia única. Se correlacionan sus patrones de expresión con los eventos microscópicos observados en el desarrollo de pétalos y estambres. Analizamos la regulación de estos genes por polinización. Además, identificamos la expresión de *VvTM6* en fruto y semilla, siendo ésta la primera evidencia de que un gen de clase B, se exprese también durante el desarrollo y la maduración del fruto. Adicionalmente, identificamos distintos genes involucrados en floración y describimos sus patrones de expresión, encontrando genes que se encontrarían tanto río arriba como abajo de la clase B. 07GENOMA01, Consorcio Tecnológico de la Fruta, Conicyt.

**ANÁLISIS GENÓMICO FUNCIONAL DEL DESARROLLO DEL
POLEN EN *Arabidopsis thaliana*** (Functional genomic analysis of pollen development in *Arabidopsis thaliana*) **León, G.**¹. Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello¹. Patrocinante: Jordana, X.

El desarrollo del gametofito masculino de las plantas, o microesporogénesis, es un proceso complejo que finaliza con la producción de los granos de polen. A pesar de la importancia biológica y agronómica del polen, nuestro conocimiento de los aspectos moleculares que gobiernan su desarrollo es escaso. La principal razón para esto es que se han identificado pocos genes esenciales para este proceso, la mayoría a través del análisis de miles de plantas mutantes a la vez, una estrategia lenta y poco eficiente. Por otra parte, el análisis funcional de familias génicas a permitido identificar otros genes cuya función es esencial para la microgametogénesis; sin embargo, en este caso el foco de la investigación no es el desarrollo del polen y el fenotipo es detectado fortuitamente. Para entender mejor la biogénesis del polen, hemos desarrollado una estrategia dirigida al descubrimiento de genes esenciales para su desarrollo, basada en el análisis de perfiles de acumulación de mRNAs en diferentes etapas de este proceso seguido de un sencillo análisis fenotípico de plantas mutantes en genes candidatos. Usando esta estrategia hemos descubierto nuevos genes esenciales para el desarrollo del polen, los que hemos llamado *DPD* (*DEFECTIVE IN POLLEN DEVELOPMENT*). Actualmente nos encontramos caracterizando funcionalmente a los genes *DPD* y esperamos contribuir de manera significativa a entender mejor los aspectos moleculares la microgametogénesis.

*Comunicaciones
Libres Orales*

MICROBIOLOGÍA Y VIROLOGÍA

CLONALIDAD DE CEPAS DE ACINETOBACTER BAUMANNII PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS AISLADAS EN HOSPITALES CHILENOS (Clonality of carbapenemase-producer strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from Chilean hospitals) **Opazo, A.¹**, Flores, M.¹, Bello, H.¹, Domínguez, M.¹, García, P.², San Martín, M.³, Sakurada, A.⁴, González, G.¹. Depto. Microbiología, Fac. Cs. Biológicas, Universidad de Concepción¹, Fac. Medicina, P. Universidad Católica de Chile², Lab. Centralizado, Hospital Barros Luco³, Unid. Microbiología, Hosp. Clínico Universidad de Chile⁴. **Patrocinante Martínez, J.**

Acinetobacter baumannii, cocobacilo Gram negativo no fermentador, es considerado un patógeno oportunista y se ha involucrado frecuentemente en brotes epidémicos en unidades de cuidados intensivos. Es agente etiológico de septicemia, neumonía e infecciones del tracto urinario en pacientes hospitalizados. Se caracteriza por ser multiresistente a los antibióticos, por lo que los carbapenémicos son importantes en el tratamiento de las infecciones que causan. Estos betalactámicos corresponden a potentes compuestos por lo que han sido reservados para el tratamiento de pacientes hospitalizados con infecciones graves. Sin embargo, durante la última década ha incrementado considerablemente el número de cepas multiresistentes, cuyo principal mecanismo de resistencia es la producción de carbapenemasas, entre ellas las serin-carbapenemasas y metalo-betalactamasas. En este trabajo se investigó la clonalidad de 37 cepas de *A. baumannii* por macrorestricción y electroforesis en campo pulsado, en cepas multiresistentes aisladas en tres hospitales de la Región Metropolitana y se relacionó los clones con la producción de distintas carbapenemasas. La detección de carbapenemasas se realizó mediante la prueba de Hodge y la de metalo-betalactamasas por sinergia entre imipenem y EDTA. Todas las cepas analizadas fueron productoras de carbapenemasas, principalmente serin-carbapenemasas. El primer hospital analizado presentó mayor policlonalidad (> 7 clones), indicando un mejor manejo de las infecciones intrahospitalarias y que la resistencia se diseminaría por transferencia horizontal de genes más que por la diseminación de clones resistentes. En los otros centros hospitalarios sólo se encontró de 3 a 4 clones.

ESTUDIO DE TRANSPORTE IN VITRO EN PROTEOLIPOSOMAS DE LAS PORINAS OMPD, OMPW Y OMPL DE SALMONELLA ENTERICA SV. TYPHIMURIUM (In vitro transport studies using proteoliposomes containing OmpD, OmpW or OmpL porins from *Salmonella enterica* sv. Typhimurium) **Gutierrez, J.I.¹**, Villarreal, J.M.¹, Collao, B.¹, Parra, S.¹, Aspee, A.², Saavedra, C.¹. Laboratorio de Microbiología Molecular, Dpto. Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello¹, Laboratorio de cinética y fotoquímica molecular, Dpto. de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile².

Las bacterias Gram negativo, están cubiertas por dos membranas, una interna que separa el ambiente reductor del citoplasma del ambiente oxidante periplásmico. Separada de la membrana interna por el periplasma, se encuentra la membrana externa en cuyo contenido proteico están las porinas. Estas corresponden a canales acuosos que permiten la difusión pasiva de solutos a través de los que son importados azúcares y nutrientes esenciales para la bacteria así como también permiten la entrada de algunos tóxicos y antibióticos. Evidencia genética obtenida en nuestro laboratorio, indica que los genes que codifican para las porinas OmpD, OmpL y OmpW de *Salmonella Typhimurium*, participan en la resistencia a metilviologenio (MV) lo que sugiere un rol dual de estas proteínas, permitiendo la salida de MV al espacio extracelular. Por otro lado, cuando *Salmonella* se encuentra colonizando su hospedero dentro del macrófago, como primera barrera defensiva el glutatión reducido que está en el citoplasma puede ser exportado al espacio extracelular, por mecanismo(s) aún no caracterizado(s). En este trabajo se demostró in vitro que OmpD y OmpW permiten la difusión de MV desde proteoliposomas reconstituidos. A diferencia de OmpL que no fue capaz de permitir la salida de este tóxico. Al utilizar glutatión como sustrato en vez de MV, el canal OmpD permite la salida de esta molécula. Lo que sugiere que esta proteína de membrana podría ser responsable in vivo de la exportación de glutatión al extracelular. Financiamiento FONDECYT 1085131, DI-UNAB 39-06/R, 08-14/I.

LOS COMPONENTES DEL COMPLEJO PIRUVATO DESHIDROGENASA DE *Aeromonas caviae* MEDIAN RESISTENCIA A TELURITO DE POTASIO EN *Escherichia coli* (The components of the pyruvate dehydrogenase complex of *Aeromonas caviae* mediate resistance to potassium tellurite in *Escherichia coli*) **Molina, R.¹**, Castro, M.¹, Díaz, W.¹, Vásquez, C.¹. Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, USACH¹.

El telurito de potasio (K_2TeO_3) es tóxico para la mayoría de los organismos. A la fecha se desconoce el mecanismo por el cual ejerce su toxicidad y se sugiere que parte de ella estaría dada por generación de estrés oxidativo. Una vía de desintoxicación de K_2TeO_3 es la reducción de telurito a telurio elemental (Te^0), de baja o nula toxicidad. En nuestro laboratorio aislamos una cepa de *Aeromonas caviae* resistente a K_2TeO_3 que reduce enzimáticamente telurito a Te^0 . La purificación de esta actividad identificó el complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDH) como responsable de la reducción de telurito. Se determinó que la expresión de los genes que especifican los componentes E1, E2 y E3 del complejo PDH de *A. caviae* (*aceE*, *aceF* y *lpdA* respectivamente) confiere resistencia a K_2TeO_3 en *E. coli*. Esto está de acuerdo con la observación que células de *E. coli* deficientes en cada uno de estos genes exhiben una gran sensibilidad al tóxico, la que es revertida por complementación con los respectivos genes. Utilizando células reporteras demostramos que la expresión de los genes de *A. caviae* disminuyen los niveles de especies reactivas de oxígeno en *E. coli*. Financiado por Fondecyt 1060022, Dicyt-USACH.

REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA GLUTAMIL-tRNA SINTETASA DE *A. ferrooxidans* POR EL ESTADO REDOX. (Regulation of GluRS1 of *A. ferrooxidans* by the redox status) **Katz, A.¹**, Ibbá, M.², Orellana, O.¹. Programa de Biología Celular y Molecular ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹, Department of Microbiology, Ohio State University, USA².

El hemo cumple un papel importante en las células debido a que participa en diversos procesos metabólicos. Sin embargo, también es capaz de generar especies reactivas de oxígeno, por lo que sus niveles se modulan finamente. El hemo se produce a partir del ácido δ aminolevulinico (ALA). En la mayoría de las bacterias, incluyendo *Acidithiobacillus ferrooxidans*, el ALA se sintetiza a partir de glutamato y tRNA en una vía catalizada por tres enzimas: Glutamil-tRNA sintetasa (GluRS), Glutamil-tRNA reductasa y Glutamato-semialdehído aminotransferasa. Estudios previos indican que en *A. ferrooxidans* la síntesis de hemo se regula en parte mediante la modulación de la actividad de la GluRS1, una de las dos GluRS presentes en este microorganismo, sin afectar su concentración celular. Nuestros resultados indican que in vitro la hemina, un análogo de hemo, puede inhibir a concentraciones relativamente altas a la GluRS1. Sin embargo, el peróxido de hidrógeno provoca un efecto inhibidor sinérgico con la hemina. Este efecto se revierte por la acción de DTT. Estudios de modificación con DTNB muestran que sólo tres de las cuatro cisteínas de la GluRS son accesibles y una sola de estas cisteínas se oxida por la mezcla de hemina y H_2O_2 . Actualmente se realizan experimentos para identificar la cisteína oxidada y el estado redox in vivo. Financiado por Fondecyt 1070437 y becas Conicyt a A.K.

UTILIZACIÓN DE HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FUNCIONES GÉNICAS QUE PODRÍAN SER REGULADAS POR EL SISTEMA QUORUM SENSING *afel/afeR* DE

Acidithiobacillus ferrooxidans (Using bioinformatic tools to identify genes that might be regulated by the *afel/afeR* quorum sensing system from *Acidithiobacillus ferrooxidans*) **Banderas, A.¹**, Gulliani, N.¹, Lab. Microbiología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Ins. Dinámica Celular y Biotecnología (ICDB)¹, Patrocinante: Preller, A.

Las funciones fisiológicas reguladas por el sistema quorum sensing (QS) mediado por el par génico *afel/afeR* en la bacteria quimiolitotrofa *Acidithiobacillus ferrooxidans* son aún desconocidas. Como se ha descrito en otras bacterias Gram-negativas, es posible que en este microorganismo el QS regule la producción de exopolisacáridos y la formación de biopelículas, ambos fenotipos relacionados con el proceso de biolixiviación. Nos propusimos realizar un análisis bioinformático de la secuencia nucleotídica del genoma de *A. ferrooxidans* ATCC 23270 con el objetivo de identificar sitios de unión putativos para el regulador transcripcional de QS *AfeR*. Para esto, construimos un conjunto de Modelos Ocultos de Markov (HMM) basados en la secuencia operadora del gen *afel*. Los sitios de unión putativos identificados en la búsqueda fueron agrupados de acuerdo a diferentes parámetros, incluyendo su posición relativa al codón de inicio más cercano y su vecindad con promotores sigma 70. Se identificaron 76 genes que representan 2,4% de los ORFs totales de *A. ferrooxidans*. Éstos codifican para proteínas que pertenecen a diferentes categorías funcionales. Interesantemente, y en directa relación con nuestra hipótesis de trabajo, se identificaron tres genes codificantes para proteínas que participan en el metabolismo de polisacáridos. Además, se encontraron 5 reguladores transcripcionales pertenecientes a la familia LysR y dependientes de sigma 54. Estos resultados abren nuevas perspectivas respecto del rol que podría tener el sistema QS *afel/afeR* de *A. ferrooxidans*. Sin embargo, estos resultados bioinformáticos deberán ser confirmados con experimentos biológicos.

LA PROTEINA HUR, ES UN MODULADOR DEL INICIO DE LA TRADUCCIÓN MEDIADA POR IRES EN HIV-1 Y HCV (The Elav-like protein, HuR, is a modulator of HIV and HCV IRES-mediated translation initiation.)

Rivas, A.¹, **Ramdohr, P.¹**, Vallejos, M.¹, Dormoy-Raclet, V.², Rodríguez, F.³, Valiente, F.¹, Huidobro-Toro, J.P.³, Gallouzi, I.², López-Lastra, M.¹, Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, McGill University, Montreal, Quebec, Canada², Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile³.

The human embryonic lethal abnormal vision (ELAV)-like protein, HuR, is known to enhance mRNA stability through binding to consensus AU-rich elements in 3'-UTR sequences. Most recently HuR has also been found to participate in translational control of specific mRNAs. In this study we show that HuR participates in the translational control of the HIV-1 and HCV IRES elements. HuR functions as a repressor of HIV-1 IRES activity, however it acts as an activator of HCV IRES. The effect of HuR on HIV-1 and HCV IRES-driven translation was evaluated in three independent experimental model systems, rabbit reticulocyte lysate, HeLa cells, and *Xenopus laevis* oocytes, using both overexpression and knockdown approaches. Furthermore, results obtained in *Xenopus laevis* oocytes suggest that HuR mediated regulation of both HIV-1 and HCV IRESes does not require the nuclear translocation of the IRES-containing RNAs. Together our observations identify HuR as a molecular modulator of both HIV-1 and HCV IRES elements and yield novel insights into the role of this cellular protein in the post-transcriptional regulation of viral gene expression. Supported by FONDECYT-1060655, JEA-IRD. JPH-T is a member of MIFAB, MLL is member of the Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia.

COMPRENDIENDO LA VIDA QUIMIOLITOTROFICA A pH 1 A TRAVÉS DE LA GENÓMICA COMPARATIVA (Insights into chemolithoautotrophic life at pH 1 using comparative genomics)

Quatini, R.¹, Holmes, D.¹, **Valdés, J.²**, Centro de Bioinformática y Biología Genómica, Fundación Ciencia para la Vida. Programa de doctorado en Biotecnología, Universidad Andrés Bello.¹, Centro de Bioinformática y Biología Genómica, Fundación Ciencia para la Vida, Programa de doctorado en Biotecnología, Universidad Andrés Bello.², Patrocinante: Jedlicki, E.

Los microorganismos participantes en procesos biogeoquímicos asociados a la biominería se caracterizan por proliferar en ambientes ácidos y por obtener energía desde fuentes inorgánicas de hierro y azufre. El estudio de estos microorganismos y de los procesos moleculares responsables de la biolixiviación han sido impedidos por la falta de un sistema de manipulación genética. Sin embargo, la secuenciación de los genomas de algunos miembros de este consorcio de microorganismos ha permitido descifrar parte importante de los procesos metabólicos relevantes para el proceso de biolixiviación. Con el fin de obtener una visión más amplia y completa de las potenciales actividades biológicas y su impacto en los procesos biogeoquímicos presentes en el nicho de biolixiviación hemos secuenciado y analizado a través de diversas herramientas bioinformáticas los genomas de *A. caldus* y *A. thiooxidans*. La información generada se analizó en conjunto con la información disponible para el genoma de *A. ferrooxidans* mediante herramientas de genómica comparativa. Los resultados obtenidos muestran la presencia de distintos mecanismos para la obtención de energía a partir de sustratos minerales, asimilación de nutrientes, motilidad y quimiotaxis. El análisis de los tres genomas del género *Acidithiobacillus* permitió establecer y analizar el "pangenoma" (genoma comunitario) de este género. Esta información nos permitió identificar funciones conservadas en estas bacterias y la estructuración de redes de regulación transcripcional y metabólica, lo que en su conjunto nos entregan las bases fundamentales para descifrar el potencial impacto ecofisiológico de estos microorganismos.

IDENTIFICACIÓN DE UN SITIO INTERNO DE ENTRADA DEL RIBOSOMA EN LA REGIÓN 5'UTR DEL mRNA COMPLETO DEL VIRUS DEL TUMOR MAMARIO MURINO (Identification of an IRES element in the mRNA of murine mammary tumor virus)

Vallejos, M.¹, **Ramdohr, P.¹**, Tapia, K.¹, Valiente-Echeverría, F.¹, Lopéz-Lastra, M.¹, Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile¹.

El virus del tumor mamario murino (MMTV) miembro de la familia Retroviridae, es responsable del cáncer mamario de ratón. En este estudio evaluamos si la región 5' no traducida (5'UTR) del mRNA de MMTV posee un sitio interno de entrada de ribosomas (IRES). Nuestra hipótesis se sustenta en la presencia de elementos IRES en otros mRNA retrovirales y reportes que describen que durante la infección viral la proteasa de MMTV es capaz de procesar el factor de iniciación eIF4G inhibiendo así la traducción cap-dependiente, sin afectar la traducción IRES dependiente. Utilizando un mRNA bicistrónico que posee en su región intercistónica el segmento 5'UTR del mRNA de MMTV y lisado de reticulocitos de conejo (RRL) como sistema de traducción in vitro, demostramos que la región 5'UTR de MMTV es capaz de iniciar la síntesis de proteínas bajo condiciones experimentales en las que la traducción cap-dependiente está inhibida, como son la presencia de la proteasa L del virus de la fiebre aftosa (FMDV) y en la presencia de análogo de cap. Los resultados de los ensayos in vitro se ratificaron en un contexto celular mediante ensayos de transfección en células NMuMG y Cos-7. En resumen este estudio ha permitido identificar un nuevo IRES retroviral presente en la región 5'UTR del mRNA del MMTV. Proyecto FONDECYT 1060655. MV y FV son becarios CONICYT. PR es becario UNAB.

SEÑALIZACIÓN CELULAR Y REGULACIÓN METABÓLICA**CA²⁺ MEDIA LA INCORPORACIÓN DE GLUCOSA ESTIMULADA POR INSULINA EN CARDIOMIOCITOS Y L6GLUT4MYC**

(Ca²⁺ mediates insulin-stimulated glucose uptake in cardiac myocytes and L6GLUT4myc) **Contreras-Ferrat, A.¹**, Jaimovich, E.¹, Klip, A.², Lavandero, S.¹. FONDAP CEMC, Universidad de Chile¹, The Hospital for Sick Children, Toronto, ON, Canada²

Insulina estimula la captación de glucosa en células musculares por movilización de los transportadores de glucosa GLUT4 a la superficie celular. La participación del Ca²⁺ en este proceso no ha sido investigada. En este trabajo se evaluó el papel del Ca²⁺ en la incorporación de glucosa inducida por insulina, usando FLUO3-AM y captación de glucosa (3H-2DG) en cardiomiocitos y cuantificación del GLUT4myc en superficie de células L6GLUT4myc. Insulina indujo un aumento bifásico del calcio intracelular ([Ca²⁺]_i), alcanzando un máximo en la intensidad de fluorescencia relativa de 224 ± 23 y 219 ± 38 ([ΔF/F]x100) en medio con y sin-Ca²⁺, respectivamente, siendo inhibido por genisteína en cardiomiocitos. Insulina estimuló la captación de 3H-2DG en 3,2 ± 0,2 y 3,5 ± 0,3 veces en medio con y sin-Ca²⁺ en cardiomiocitos. Este efecto fue inhibido por Indinavir, citocalasina, BAPTA-AM, Akt1/2, Adβark-ct, LY-294002, U-73122 y 2-APB. En células L6GLUT4myc, insulina aumentó el transportador en superficie 2,1 ± 0,2 y 2,0 ± 0,2 veces en medio con y sin-Ca²⁺, respectivamente. BAPTA-AM, Akt1/2, LY 294002 y 2-APB inhibieron este efecto parcialmente. Estos resultados sugieren que el Ca²⁺ liberado desde compartimientos intracelulares regula el transporte de glucosa inducido por insulina. FONDAP 1501006, FONDECYT 1080436, Graduate Student's Exchange Program, Canada. ACF es becario doctorado-CONICYT.

RIC-8B ES TRANSLOCADO DESDE EL CITOSOL A LA MEMBRANA PLASMÁTICA EN RESPUESTA A ISOPROTERENOL Y CARBACOL (RIC-8B is translocated from the cytosol to the plasma membrane in response to isoproterenol and carbachol)

Pasten, P.¹, Olate, J.¹, Hinrichs, M.V.¹. Laboratorio de Genética Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica ¹

Ric-8 es una familia de proteínas descubiertas inicialmente en *C. elegans*, que cumplen un rol importante en la señalización no canónica mediada por proteínas G. Al realizar la caracterización funcional de la isoforma Ric8 B humana, clonada recientemente en nuestro laboratorio, se encontró que ésta no fue capaz de incrementar por sí sola los niveles de cAMP al ser expresada en células HEK, pero si de potenciar a través de su actividad GEF a la subunidad G_{αs}, previamente activada por el complejo Isoproterenol-receptor β-adrenérgico. Dado que RIC-8 es una proteína citosólica y que tiene la capacidad de interactuar con diferentes tipos de subunidades G_α, nosotros quisimos comparar la localización subcelular de esta proteína en condiciones no estimuladas y tratadas con agonistas para distintos GPCRs. Para ello se transfectoron células HEK293T, las cuales fueron incubadas con y sin Isoproterenol y Carbachol, ligandos que se unen a receptores que activan a las proteínas G_s y G_q respectivamente. Los resultados obtenidos indican que RIC-8B no se encuentra asociado a la membrana plasmática en condiciones no estimuladas y que transloca a la membrana al ser activadas las diferentes proteínas G por sus respectivos GPCRs. Ello concuerda con resultados publicados, que indican que Ric8 sólo puede interactuar con las subunidades G_α monoméricas y no con el heterotrímero.

NUEVAS ACCIONES DE ALDOSTERONA EN CÉLULAS MONONUCLEARES

(New actions of aldosterone in mononuclear cells) **Díaz-Elizondo, J.¹**, Olea-Azar, C.^{2,3}, Lavandero, S.¹, Michea, L.^{4,5}. Centro FONDAP CEMC. Facultades de Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Medicina, Universidad de Chile¹, Facultades de Ciencias Químicas y Farmacéuticas ², Universidad de Chile³, Centro FONDAP CEMC. Facultades de ⁴, Medicina, Universidad de Chile⁵.

Aldosterona es una hormona que regula la homeostasis del agua y sodio a nivel renal y vascular, clásicamente por un mecanismo genómico. Dado que se conoce poco de sus acciones y mecanismos de acción sobre células del sistema inmune, en este trabajo investigamos sus efectos sobre las células mononucleares. Las células mononucleares de sangre periférica de rata se separaron por gradiente de Ficoll y se trataron con aldosterona. Se evaluó la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) por citometría de flujo y/o fluorimetría usando DCF-DA como sensor. Además las ROS se caracterizaron por resonancia de spin electrónico (ESR) usando el atrapador DMPO. La activación de la vía ERK1/2 se evaluó a través de su fosforilación mediante Western blot. ALDO (100 nM) estimuló una rápida generación de ROS desde los 5 hasta los 15 min, principalmente en los monocitos, efecto que fue prevenido tanto por el antagonista del receptor de mineralocorticoide espironolactona (5 μM) como por N-acetilcisteína. Por ESR se detectó la generación de la especie radicalaria hidroxilo. También aldosterona estimuló un aumento de la fosforilación de ERK1/2 a los 5 min. Estos datos sugieren un posible efecto no genómico de aldosterona a través de su receptor clásico en las células mononucleares. JDE es becario Conicyt.

PRIVACIÓN DE GLUCOSA ACTIVA DIVERSAS FORMAS DE AUTOFAGIA EN EL CARDIOMIOCITO

(Different types of autophagy are activated in glucose-deprived cardiomyocytes) **Toro, B.¹**, Rodríguez, A.¹, Troncoso, R.¹, Cuervo, A.M.², Lavandero, S.¹. Centro FONDAP CEMC, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile ¹, Albert Einstein College of Medicine, NY, USA².

La autofagia mediada por chaperonas (AMC) degrada proteínas citosólicas con una secuencia aminoácida consenso específica, previo reconocimiento al receptor lisosomal Lamp-2A. Tanto los niveles de la chaperona Hsc70 como los de LAMP-2A se asocian directamente a cambios en la velocidad de activación de la AMC, especialmente bajo condiciones de estrés. Dado que el metabolismo glicolítico es clave en el cardiomiocito neonato, en este trabajo se estudiaron los efectos de la carencia de glucosa sobre procesos celulares que compensan el estrés. La falta de glucosa alteró el balance redox intracelular dado que aumentaron las especies reactivas de oxígeno, la carbonilación de proteínas y se generaron agregados proteicos poliubiquitinados. Después de 18 h de privación, los niveles de ATP disminuyeron mientras que los de Lamp 2A y Hsc 70 aumentaron así como la masa total mitocondrial. Los niveles de CHOP y BIP, marcadores de estrés reticular, no se modificaron. Aunque N acetilcisteína previno la generación de ROS, hubo un aumento en la muerte celular e inhibición de la degradación de la proteína autofágica GFP-LC3. Se concluye que la privación de glucosa activa la AMC y la autofagia pero no genera estrés de retículo. BT y RT son becarios doctorado CONICYT. FONDAP 1501006 y beca CONICYT apoyo tesis doctoral 24080060 y 24071082.

NAD(P)H OXIDASA ESTA INVOLUCRADA EN EL AUMENTO DE LA EXPRESION Y ACTIVIDAD DE hCAT-1 POR D-GLUCOSA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO (NADPH oxidase is involved in the increased expression and activity of hCAT-1 by D-glucose in human fetal endothelium) **González, M.**¹, Sobrevia, L.¹, Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹, Patrocinante: Marcelo Lopez-Lastra.

Alta D-glucosa altera la expresión de diversas proteínas, entre éstas y+hCAT-1, involucrada en el transporte de L-arginina, y NAD(P)H oxidasa, involucrada en la síntesis de especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS) en endotelio de vena umbilical humana (HUVEC). Estudiamos cambios en el proteoma (electroforesis bidimensional) por D-glucosa (25 mM, 24 horas) e insulina (1 nM, 8 horas) y los efectos de estas moléculas en la síntesis de ROS, mRNA de hCAT-1 y transporte de L-arginina en HUVEC, en ausencia y en presencia de apocinina (10 μ M, inhibidor de NAD(P)H oxidasa). Alta D-glucosa aumentó la síntesis de ROS, el nivel de hCAT-1 mRNA y el transporte de L-arginina. Este efecto de D-glucosa fue bloqueado por apocinina e insulina. La síntesis de ROS fue disminuida por insulina, un efecto que no fue bloqueado por apocinina. Tanto alta D-glucosa como insulina modifican la expresión de diferentes proteínas en HUVEC. El aumento de la expresión y actividad de hCAT-1 podría ser mediado por ROS derivado de NAD(P)H oxidasa. La inhibición de los efectos de D-glucosa por insulina podrían deberse a una inhibición de la actividad de NAD(P)H oxidasa en HUVEC. FONDECYT 1070865, 1080534, 7080139, 7070249. Beca CONICYT 23070213.

INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE CK1 α POR AUTOFOSFORILACIÓN EN SU EXTREMO C-TERMINAL.

(The Inhibition of Enzymatic Activity of CK1 α by C-terminal Autophosphorylation) **Budini, M.**¹, Jacob, G.¹, Jedlicki, A.¹, Allende, J.E.¹, ICBM, Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.¹, Patrocinante: Jacob, G.

CK1 es una serina/treonina proteína quinasa que conforma una subfamilia integrada por 6 isoformas codificadas por genes distintos (CK1 α , γ 1, γ 2, γ 3 δ y ϵ). CK1 α puede generar cuatro variantes por procesamiento alternativo de su mRNA (CK1 α , CK1 α L, CK1 α S y CK1 α LS). El estudio de la regulación de la actividad enzimática de CK1 se ha centrado en su autofosforilación. Está demostrado que la autofosforilación del extremo carboxilo terminal de CK1 δ y CK1 ϵ causa una inhibición de su actividad catalítica. Por espectrometría de masa se identificaron sitios de autofosforilación en el extremo carboxilo terminal de CK1 α y sus variantes. Mediante la creación de mutantes puntuales y de delección de CK1 α (CK1 α 1-325(S311A,S312A,T321A,T323A), CK1 α 10-325, CK1 α 10-325(S311A,S312A,T321A,T323A)), se confirmó que estos son los principales sitios de autofosforilación y que son los responsables de inhibir la actividad enzimática. Las mutantes que pierden estos sitios (CK1 α 10-325(S311A,S312A,T321A,T323A) y CK1 α 1-325(S311A,S312A,T321A,T323A)) no se autofosforilan y presentan el doble de actividad que la enzima nativa (CK1 α 1-325), resultado que sería explicado por el aumento encontrado en la eficiencia catalítica (k_{cat}/K_m). Este es el primer reporte de inhibición por autofosforilación de la actividad de CK1 α , sugiriendo que este podría ser un mecanismo de regulación común para las isoformas de CK1 estudiadas hasta ahora. Patrocinado por Proyecto Fondecyt N° 1060107.

REGULACIÓN DEL METABOLISMO ENERGÉTICO CARDIACO POR INSULINA Y SU RELACIÓN CON FUSIÓN Y FISIÓN MITOCONDRIAL (Regulation of cardiac energetic metabolism by insulin and its relationship with mitochondrial fusion and fission) **Parra, V.**¹, Morales, C.¹, Eisner, V.¹, Zorzano, A.², Lavandero, S.¹, Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile, Chile.¹, Instituto de Investigación Biomédica, Barcelona, España.².

El número, estructura y función de las mitocondrias dependen de eventos dinámicos y balanceados de fusión y fisión. Evidencias recientes muestran que la maquinaria de la fusión mitocondrial también regula su metabolismo, sin embargo, aún no existe una relación directa entre ambos procesos. Dado que insulina regula enzimas claves del metabolismo intermedio del cardiomiocito, es posible proponer que esta hormona también controle la morfología mitocondrial. En este trabajo se investigaron parámetros metabólicos y morfológicos de mitocondrias de cardiomiocitos de rata expuestos a insulina 1-10 nM por 0-24 h. Al utilizar la sonda mitotracker green-AM, microscopía confocal y reconstrucción 3D, se observó que insulina promovió la fusión mitocondrial, lo que se tradujo en un aumento significativo del volumen promedio del organelo a las 3 h de tratamiento. El potencial de membrana mitocondrial y el contenido intracelular de ATP se utilizaron para determinar el metabolismo mitocondrial, observándose que estos parámetros aumentaron durante el mismo periodo de tiempo. Se establece así, por primera vez, una relación directa entre la morfología y la función mitocondrial, siendo ambos procesos regulados por insulina. Parra V. es becaria CONICYT, FONDAP 1501006, FONDECYT 1080436, Proyecto Colaboración Internacional PCI2007 A7 0515, Ministerio de Educación y Ciencia, España.

DEGRADACIÓN DEL RECEPTOR DE RYANODINA TIPO 2 EN CULTIVOS DE CARDIOMIOCITOS

(Degradation of RyR2 in cultured cardiomyocytes) **Pedrozo, Z.**^{1,2}, Sánchez, G.^{2,3}, Fernández, C.¹, Donoso, P.^{1,2}, Lavandero, S.^{2,4}, Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹, Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile², Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile³, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile⁴.

Los canales de calcio/receptores de ryanodina (RyR2) del retículo sarcoplásmico son protagonistas claves en el acoplamiento excitación-contracción del cardiomiocito. Durante la isquemia/reperfusión (I/R) ocurre una rápida disminución del RyR2, sin embargo las vías de degradación implicadas se desconocen. En estados fisiológicos y patológicos, las principales vías de degradación de proteínas intracelulares son el proteosoma y el lisosoma (autofagia). En este trabajo estudiamos las vías de degradación del RyR2 en el cardiomiocito bajo condiciones basales y de I/R. Se utilizaron cardiomiocitos cultivados en medio DME/M199 bajo 95% aire y 5% CO₂ (condición basal) o expuestos a I/R simulada por 8 y 16 h, respectivamente. La vida media del RyR2 se determinó por ensayos de pulso y caza usando ³⁵S-metionina como trazador. Para determinar las vías de degradación implicadas se utilizaron inhibidores del proteosoma y la autofagia. Los niveles proteicos del RyR2 se determinaron por Western Blot. La vida media del RyR2 cardiaco fue de 30 \pm 12 h, siendo aumentada significativamente por inhibidores de calpains pero no por inhibidores del proteosoma o la autofagia. Sin embargo, durante la I/R simulada, sólo los inhibidores del proteosoma previnieron la degradación del RyR2. Se concluye que bajo condiciones basales, el RyR2 se degradaría principalmente mediante proteasas tipo calpaina, en cambio durante la I/R simulada, este canal de calcio/receptor tendría como principal vía de degradación al proteosoma. FONDECYT 1080481, FONDAP 1501006, Beca AT CONICYT 24080044. ZP es becaria CONICYT.

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS

EL SECRETOMA DE *Penicillium purpurogenum*: ANÁLISIS POR ELECTROFORESIS BIDIMENSIONAL ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS

(The secretome from *Penicillium purpurogenum*: analysis by two-dimensional electrophoresis coupled to mass spectrometry) Navarrete, M.¹, Callegari, E.², Zhang, M.³, Black, G.³, Eyzaguirre, J.¹. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago.¹, Universidad de Dakota del Sur, Vermillion, SD, U.S.A.², Universidad de Northumbria, Newcastle, Inglaterra.³

Penicillium purpurogenum es un hongo aislado de suelos del sur de Chile. Es un activo secretor de enzimas que permiten al hongo degradar sustratos de distinta complejidad con el objetivo de obtener los nutrientes necesarios para su metabolismo. Los sustratos que contienen hemicelulosas inducen una activa secreción de enzimas por parte del hongo. Uno de los componentes importantes de las hemicelulosas es el xilano, el cual requiere para su degradación de la participación de distintas enzimas, denominadas genéricamente xilanasas: endo xilanasas, beta-xilosidasas, arabinofuranosidasas, feruloil esterases y acetil xilano esterases. La fuente de carbono utilizada en el cultivo induce las enzimas requeridas para su degradación lo que influye en la composición del secretoma. Utilizando electroforesis bidimensional se ha comparado el secretoma del hongo al crecer en distintas fuentes de carbono. De esta forma se aprecia la sobre-expresión o inhibición de la expresión de diferentes proteínas representadas por manchas al teñir los geles con Sypro Ruby. Mediante el uso de una tinción específica también ha sido posible detectar el grado de glicosilación del secretoma. Las manchas son cortadas para procesarlas con tripsina y someter los péptidos a análisis por espectrometría de masas para su identificación. Utilizando la base de datos Mascot, hemos podido identificar algunas xilanasas, las cuales se encuentran diferencialmente expresadas en distintas condiciones de cultivo. Financiamiento: FONDECYT 1040201 y 1070368, UNAB Proyectos Internos 03-05R y 07-06/I y Vicerrectoría de Investigación y Postgrado UNAB.

ROL DE RESIDUOS BÁSICOS EN EL SENSADO DE pH EN LOS CANALES TASK2 Y TASK3

(Role of basic residues in pH sensing of Task2 and Task3 channels) Sepulveda, F.¹, González-Nilo, F.², Navarro, C.², Chipot, C.³, Niemeyer, M.I.⁴. CECS, Valdivia¹, CBSM, Universidad de Talca², CNRS/UHP, Francia³, CECS, Valdivia⁴.

La activación de los canales de K sensados por pH por cambios de estado de protonación de aminoácidos básicos explicaría el mecanismo de activación de los canales TASK2 y TASK3. Nuestro estudio demuestra que el perfil de energía libre entre los estados cargado y neutro de la Arg224 de TASK2, genera barreras energéticas importantes cuando pasa de estado activado (aprox. 6 Kcal/mol) a estado inactivado (sobre 20 Kcal/mol). Estos perfiles de energía libre demuestran que existe una perturbación electrostática y estructural importante en el filtro de selectividad durante el proceso de cambio de estado de protonación de la Arg, que explica la inactivación tipo-C observada experimentalmente. De esta misma forma hemos realizado un estudio sistemático de Dinámica Molecular del canal de K TASK3. Nuestros resultados demuestran que el residuo de His, sensor durante el proceso de protonación, sufre cambios conformacionales importantes, pasando de un estado neutro inaccesible al solvente a un estado cargado accesible al solvente; este cambio conformacional genera una reorganización de la red de enlaces de H. La evaluación del potencial electrostático demuestra que no existen cambios electrostáticos importantes durante la activación del canal. Nuestro estudio concluye que la activación de TASK3 esta gobernada fundamentalmente por cambios conformacionales del filtro de selectividad y no por el potencial electrostático producido durante el proceso de cambio de estado de protonación de la His sensor. Agradecimientos: Proyecto Anillo Científico ACT/46.

MAPEO COMPARATIVO DE GRUPOS FUNCIONALES EN PROTEÍNAS DE FUSIÓN VIRAL CLASE II

(Comparative functional group mapping of Class II viral fusion proteins) Lagos, C.F.¹, Huenchunir, P.², López-Lastra, M.³, Pérez-Acle, T.^{1,4}. Centro de Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC¹, Laboratorio de Química Médica, Facultad de Química, PUC², Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, PUC³, Fundación Ciencia para la Vida⁴.

Enveloped viruses infect cells via fusion of the virus membrane with a host cell membrane through viral fusion proteins. Upon appropriate triggering, the fusion protein interacts with the target membrane and undergoes a conformational change that drives the membrane fusion reaction. The structures of the ectodomains of fusion proteins from flaviviruses revealed that although these proteins lack detectable amino acid sequence conservation, their secondary and tertiary structures are remarkably similar. In this work we report the construction of consensus functionality maps for functional group binding in class II fusion proteins. The calculations were done for three flavivirus class II envelope glycoproteins: Dengue virus (DENV), Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV) and West Nile Virus (WNV). The results gave consensus maps that indicate functional groups that are insensitive to the specific protein conformation and the existence of alternative binding sites that could be targeted in the rational design of broad-spectrum inhibitors. Acknowledgments: Funding from grant W81XWH-08-1-0285 USAMRMC. CFL is a fellow of the Fundación Ciencia para la Vida (PFB-16).

DIFERENCIAS DE LA UNIDAD SENSORA DEL pH EXTRACELULAR ENTRE LOS CANALES DE ENTRADA DE POTASIO PRESENTES EN LOS ESTOMAS.

(Differences in extracellular pH sensor units between the stomatal inward potassium channels) González, W.¹, Morales, S.¹, Alzate, J.¹, González-Nilo, F.D.¹, Dreyer, I.². Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca¹, Universität Potsdam, Institut für Biochemie und Biologie, Heisenberg-Gruppe Biophysik und Molekulare Pflanzenbiologie, Germany².

Para que se abran los estomas en las plantas, es prerequisite la acidificación del apoplasto, lo cual garantiza que los canales de entrada de potasio dependientes de voltaje (canales K_{in}) perciban esta acidificación y se abran con un menor gasto de energía. Las unidades sensoras del pH extracelular en los canales K_{in} de los estomas son histidinas expuestas al apoplasto. Sin embargo, en el canal KAT1 de *Arabidopsis thaliana* la mutación de la única histidina (H267) expuesta al medio extracelular no afecta la dependencia de pH. La H267 está en el poro del canal KAT1, formando parte de la secuencia consenso TVGYDXH. En la posición X de esta secuencia KAT1 presenta una fenilalanina, mientras que el resto de los canales K_{in} posee una leucina en X. Un modelo por homología de KAT1 permitió distinguir que las cadenas laterales de la F266 y la H267 distan menos de 5Å.... Se planteó la hipótesis que la H267 de KAT1 no podía sentir el pH porque la F266 desplaza su pK_a a valores no detectables. Esta hipótesis se corroboró mediante mutagénesis sitio dirigida y experimentos de voltaje-clamp con dos electrodos. Mediante cálculos de Mecánica Cuántica-Mecánica Molecular (QM/MM), se pudo establecer que si en la posición X hay una leucina, la histidina sensora puede protonarse y deprotonarse, mientras que si está presente una fenilalanina, estos eventos no se producen porque la fenilalanina estaría formando una interacción tipo catión- π con la H267.

ESTUDIOS *in silico* E *in vitro* DEL DESPLEGAMIENTO TÉRMICO DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *Escherichia coli*: IMPORTANCIA DE LA INTERFAZ MONÓMERO-MONÓMERO.

(*In silico* and *in vitro* studies of the thermal unfolding of phosphofructokinase-2 from *Escherichia coli*: importance of the monomer-monomer interface.) Merino, F.¹, Baez, M.¹, Babul, J.¹, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

La fosfofructoquinasa-2 de *Escherichia coli* es un homodímero, cuyo monómero está compuesto por un dominio grande y uno pequeño. El sitio activo se encuentra en un surco entre estos dominios. La interfaz entre los monómeros compromete a ambos dominios menores en una interacción principalmente apolar. Para estudiar la importancia de esta interfaz en la estabilidad de fosfofructoquinasa-2 se diseñó la mutante L93A que introduce una cavidad hidrofóbica en la interfaz. Esta mutante es monomérica y posee una cantidad menor de estructura secundaria que el dímero. Experimentos de desplegamiento por temperatura de la mutante muestran que, a diferencia de la enzima silvestre, el proceso ocurre mediante una transición no cooperativa. El desplegamiento de la fosfofructoquinasa-2 inducido por temperatura fue simulado mediante dinámica molecular utilizando la función de energía efectiva EEF1 implementada en CHARMM. Simulaciones del monómero a 300 K muestran un reordenamiento del dominio menor aunque no capturan la pérdida de estructura secundaria observada en la mutante L93A. Experimentos de desplegamiento a partir del dímero muestran que la disociación de los monómeros ocurre luego de una gran pérdida de estructura secundaria, sugiriendo que el paso limitante del desplegamiento es la ruptura de la interfaz. Experimentos de desplegamiento a partir del monómero muestran que éste sigue un camino distinto al del dímero, lo que sugiere que la interfaz entre monómeros es importante tanto para la ruta de desplegamiento como para la estabilidad de la enzima. Fondecyt 1050818.

ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN DEL ASA FLEXIBLE DE LA INTEGRASA DE M-MuLV POR MUTAGENESIS. (Analysis of the function of the flexible loop of M-MuLV integrase by mutagenesis.)

Acevedo, M.L.¹, León, O.¹, Laboratorio de Retrovirus, Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹.

La integrasa (IN) del virus de leucemia murina de Moloney (M-MuLV) es esencial para el ciclo replicativo del virus. Posee tres dominios, el N-terminal, C-terminal y el dominio central que presenta la actividad catalítica de la enzima. Dentro de su estructura en la IN de HIV-1, el dominio catalítico presenta un asa flexible que podría estar involucrada en la unión del extremo del LTR. Por homología de secuencias entre las INs se estableció que el asa de la IN de M-MuLV corresponde a los aminoácidos 208 a 218. Se seleccionaron los residuos Tyr211, Arg212, Gln214, Ser215, Ser216 y Gln218 del asa de la IN de M-MuLV para hacer mutagénesis sitio dirigida y se analizó la actividad enzimática de cada mutante. Se observó que las enzimas con las mutaciones Y211A, R212A, R212Q y Q214A poseen menos de un 20% de actividad de integración concertada y transferencia de hebra. Ninguna mutante afectó significativamente la actividad de procesamiento 3'. Al analizar el efecto de las mutaciones en la desintegración, las mutantes Y211A, Q214A y Q214N fueron inactivas cuando se utilizó un sustrato dumbbell sin la cola 5'. Además la mutante Q214A presentó una disminución en el foto-entrecruzamiento con un sustrato con yodo-uridina en el extremo 5' procesado. Nuestros resultados demuestran que el asa flexible de la IN de M-MuLV está en contacto con el extremo 5' procesado del LTR. Probablemente Tyr211, Arg212 y Gln214 estabilizarían el DNA procesado para que ocurra la integración. Fondecyt 1040409.

UNIÓN DE METALES DIVALENTES EN FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. ESTUDIOS CINÉTICOS Y DE EPR. (Binding of divalent metals in phosphofructokinase-2 from *E. coli*. Kinetic and EPR studies)

Rivas-Pardo, J.A.¹, Wilson, C.A.M.¹, Caniuguir, A.¹, Guixé, V.¹, Laboratorio de bioquímica y biología molecular, departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile¹.

La fosfofructoquinasa-2 de *E. coli* pertenece a la superfamilia *riboquinasa* en la que el motivo conservado NXXE ha sido asociado a la unión de Mg²⁺ al sitio activo. Datos cinéticos sugieren el requerimiento de un ión Mg²⁺ distinto del ión presente en el complejo metal-nucleótido para la catálisis. En este trabajo estudiamos la unión de metales divalentes a Pfk-2 y a la mutante E190Q del motivo conservado. Sólo Mg²⁺ y Mn²⁺ son catalíticamente activos con parámetros cinéticos esencialmente iguales en la enzima silvestre, en tanto que en la mutante hay alteraciones en la K_M para ambos sustratos (ATP y fructosa-6-P) y una disminución en k_{cat}. A través de estudios cinéticos y de sustitución de metales demostramos la existencia de un segundo sitio para cationes divalentes en Pfk-2 al que Mn²⁺ se une con mayor afinidad que Mg²⁺. En condiciones de saturación con los sustratos la unión del metal libre a este segundo sitio es necesaria para obtener la k_{cat} máxima. La mutación E190Q afecta la constante de activación de Mn²⁺ y Mg²⁺. Experimentos de EPR muestran que tanto Pfk-2 como la mutante E190Q unen Mn²⁺ en ausencia del nucleótido. Ambas enzimas presentan una K_d de ~ 170 μM y una estequiometría de unión de ~1 mol/mol. Los resultados demuestran la existencia de un sitio de alta afinidad por Mn²⁺ en Pfk-2 y establecen la participación del residuo E190 en esta interacción. (Financiamiento Fondecyt 1070111).

EFFECTO DEL pH EN EL ESTADO DE OLIGOMERIZACIÓN DE INSULINA. (pH effects in oligomerization state of Insulin)

Cifuentes-Huerta, J.J.¹, Martínez-Oyanedel, J.¹, Universidad de Concepción¹.

El mayor problema que enfrenta la comercialización de insulina recombinante es la formación de fibras de insulina. Este problema actualmente tiene un altísimo costo para las empresas biotecnológicas que la fabrican, ya que en su producción, tanto como en su almacenamiento y distribución se producen condiciones que desestabilizan a la insulina y promueven la formación de agregados fibrilares. En su estado nativo activo, la insulina se encuentra en forma de hexámero asociado a 2 átomos de Zn²⁺. Se ha demostrado que es necesario desoligomerizar el hexámero de insulina a monómeros para que el proceso fibrilación ocurra. Existen varias condiciones que son capaces de inducir el proceso de desoligomerización, entre estas encontramos el pH y la temperatura. Mediante cromatografía de filtración molecular hemos seguido la desoligomerización del hexámero de la insulina comercial como consecuencia de una disminución en el pH, encontrándose una transición total a monómeros bajo pH 4.0. Paralelamente se han calculado los pK_as de los aminoácidos protonables mediante varios métodos *in silico*, utilizando la estructura hexámerica 1ms0 resuelta a 1.0 Å por Armstrong, con el objeto de realizar estudios de Dinámicas Moleculares a distintos pHs y estudios de potencial electrostático que entreguen información a nivel atómico acerca de los sucesos relevantes en el proceso de desoligomerización inducido por el pH.

EXPRESIÓN GÉNICA

ANÁLISIS GENÓMICO DE LA FAMILIA SDG Y SU EXPRESIÓN EN EL DESARROLLO DEL FRUTO EN *Vitis vinifera* (Genomic analysis of SDG family and its expression during grape development in *Vitis vinifera*) **Aquea, F.¹, Vega, A.¹, Arce-Johnson, P.¹** Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

La regulación epigenética es reconocida como un mecanismo normal y esencial para el control de la expresión génica en eucariotes, controlando el desarrollo y la respuesta a estímulos ambientales. En plantas, este mecanismo es importante para el desarrollo normal de flores, semillas y frutos. Marcas epigenéticas, tales como la modificación de histonas, afectan el control de la expresión génica a nivel de la organización de la cromatina. La mayoría de la metilación de histonas es realizada por una familia de metiltransferasas denominadas SDG (SET-domain group). A la fecha, varias metiltransferasas con dominio SET han sido caracterizadas en *Arabidopsis*, levaduras y humanos. Éstas se clasifican como activadores o represores transcripcionales. En este trabajo, identificamos y caracterizamos la familia SDG en *Vitis vinifera*. Esta familia tiene 32 miembros y según la homología con otras especies se les nombró como SDG1200 a SDG1232. Análisis filogenéticos utilizando proteínas de plantas, levaduras y animales generan 9 grupos, los que reflejan aparentemente la especificidad de sustrato de sus miembros. Identificamos los grupos H3K4 y H3K36 asociados con la activación transcripcional y los grupos H3K9 y H3K27, asociados como represores. Seleccionamos algunos genes candidatos pertenecientes a los distintos grupos funcionales y analizamos su patrón de expresión durante el desarrollo del fruto de vid. Este trabajo sugiere por primera vez la posible participación de histonas metiltransferasas en el desarrollo del fruto. Financiamiento: Núcleo Milenio Genómica Funcional de Plantas (P06-009-F).

REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL DE NURR1 POR SUMOILACIÓN Y LA PROTEÍNA DJ-1 (Regulation of the transcriptional activity of Nurr1 by sumoylation and the protein DJ-1) **Arredondo, C.¹, Pereira, L.¹, Fuenzalida, N.¹, Andrés, M.E.¹** Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Nurr1 es un receptor nuclear huérfano esencial para el desarrollo y sobrevivencia de las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas, que regulan funciones fisiológicas fundamentales como el control de los movimientos voluntarios, emociones y procesos cognitivos. Nurr1 regula la expresión de genes involucrados en neurotransmisión dopaminérgica, tales como, tirosina hidroxilasa y el transportador de dopamina. Sin embargo, los mecanismos moleculares que controlan la actividad transcripcional de Nurr1 son prácticamente desconocidos. Nuestro grupo de trabajo determinó que PIASy, una proteína SUMO E3 ligasa, interactúa con Nurr1 y reprime su actividad transcripcional. Nosotros proponemos que la actividad transcripcional de Nurr1 es regulada por sumoilación, una modificación post-traducciona covalente y reversible, que regula la actividad de una serie de factores de transcripción. Nuestros resultados muestran que Nurr1 es efectivamente sumoilado. Adicionalmente planteamos que DJ-1 regula la actividad transcripcional de Nurr1 a través de regulación de su sumoilación. DJ-1 es una proteína multifuncional que interactúa con miembros de la familia PIAS, regula la sumoilación de algunos factores de transcripción y está involucrada en casos familiares de la enfermedad de Parkinson. Mediante ensayos de genes reporteros en células PC12 y HEK293 demostramos que la sobreexpresión de DJ-1 disminuye la actividad transcripcional de Nurr1. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que la actividad transcripcional de Nurr1 es regulada por sumoilación y por la presencia de la proteína DJ-1.

ANÁLISIS FUNCIONAL DEL PROMOTOR DEL GEN *GRXC9* DE ARABIDOPSIS (FUNCTIONAL PROMOTER ANALYSIS OF *GRXC9* GENE IN ARABIDOPSIS) **Herrera, A.¹, Blanco, F.¹, Holuigue, L.¹** Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Las glutaredoxinas son una familia de oxidoreductasas que usan el glutatión (GSH) para reducir enlaces disulfuro y cisteínas glutoniladas de proteínas, protegiéndolas del daño oxidativo. *GRXC9* fue identificada por nuestro laboratorio como una de las GRXs altamente inducidas por ácido salicílico (SA), una hormona asociada a la respuesta de defensa a estrés. Análisis de expresión indican que *GRXC9* requiere de la subclase II de factores de transcripción bZIP (TGA2/5/6) y es independiente tanto de síntesis proteica *de novo* como del coactivador NPR1, clasificándose como un gen inducido tempranamente por SA de forma NPR1-independiente. Utilizando el software Motifsampler, realizamos un análisis *in silico* del promotor del conjunto de genes que responden tempranamente a SA y en forma NPR1-independiente. Esto nos permitió identificar sobrerrepresentada la caja tipo *as-1* (TGACGTCAnnnnTGACGTC), descrita previamente como un elemento de respuesta a SA. El promotor de *GRXC9* contiene 2 putativos elementos tipo *as-1* en la región proximal. Analizamos la funcionalidad de estos elementos mediante la evaluación de la expresión del gen reportero GUS, controlados por la versión completa del promotor (-1860 a +26), versiones truncas y versiones con mutaciones sitio-dinidgas en los elementos tipo *as-1*, todo esto usando el sistema de agrotransformación estable en *Arabidopsis*. Nuestros resultados indican que el elemento tipo *as-1* distal es un importante motivo para la activación transcripcional en respuesta a SA. Financiado por FONDECYT-CONICYT (1060494) y Núcleo Milenio de Genómica funcional de Plantas (P06-009-F).

REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE GENES DE DIFERENCIACIÓN MIOBLÁSTICA Y OSTEOBLÁSTICA POR ACETILACIÓN DE HISTONAS (Transcriptional regulation of myoblastic and osteoblastic differentiation genes by histone acetylation). **Cruzat, F.¹, Henríquez, B.¹, Sepulveda, H.¹, Olate, J.¹, Montecino, M.¹** Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile¹.

El proceso de diferenciación celular involucra la expresión de genes tejido específicos cuyas regiones promotoras requieren de procesos de remodelación de su estructura cromatinica. En células eucariotes pluripotenciales los eventos de remodelación cromatinica pueden ser regulados por complejos con actividades de acetiltransferasa (HAT) o deacetilasa (HDAC) de histonas. Nuestro laboratorio está interesado en definir la contribución de este tipo de complejos durante el compromiso de células precursoras mesenquimáticas con los fenotipos osteoblástico y muscular. Mediante ensayos de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP), RT-PCR, y Western Blot demostramos que el tratamiento de células pluripotenciales C2C12 con el inhibidor general de deacetilasas Tricostatina A (TSA), produce un estado de hiperacetilación global de histonas, que resulta en una disminución en la expresión de marcadores de diferenciación muscular y un aumento en la expresión de marcadores de diferenciación osteoblástica. Además, este tratamiento aumenta la unión de histonas acetiladas en el promotor del factor de transcripción Runx2 lo que promueve su expresión y la de sus genes blanco, induciendo con ello el compromiso con el lineaje óseo. En conjunto, nuestros resultados indican que la diferenciación de células pluripotenciales mesenquimáticas hacia el fenotipo osteoblástico puede ser favorecida por sobre la muscular, mediante eventos de hiperacetilación que involucran complejos remodeladores de cromatina del tipo HATs y HDACs.

HIPERMETILACIÓN DEL PROMOTOR DE BRCA1 SE CORRELACIONA CON LA AUSENCIA DE SU EXPRESIÓN EN TUMORES DE CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO. (Promoter hypermethylation of BRCA1 correlates with absence of expression in hereditary breast cancer tumors) **Tapia, T.**¹, Smalley, S.¹, Kohen, P.², Muñoz, A.², Solis, L.³, Corvalan, A.³, Faundez, P.¹, Devoto, L.², Camus, M.⁴, Alvarez, M.⁴, Carvallo, P.¹, Departamento Biología Celular y Molecular, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹, Instituto Investigaciones Materno Infantil, Universidad de Chile.², Facultad Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.³, Centro de Cáncer, Pontificia Universidad Católica de Chile.⁴.

La participación de BRCA1 en el cáncer de mama ha sido ampliamente descrita en aquellos tumores que presentan mutación en este gen en la línea germinal. Además BRCA1 ha sido implicado en el desarrollo de tumores de mama esporádicos, debido a la hipermetilación de la región promotora de este gen junto con la ausencia de su expresión en estos tumores. La participación de BRCA1 en el desarrollo de tumores hereditarios sin mutación en la línea germinal, no ha sido aún demostrado, existiendo sólo un estudio en el cual se ha determinado la hipermetilación del promotor de BRCA1 en el 42 % de estos tumores. Nosotros estudiamos la hipermetilación de la región promotora de BRCA1 en 47 tumores de mama hereditarios y su correlación con la expresión de la proteína. El promotor del gen BRCA1 se amplificó mediante PCR, a partir de DNA tumoral modificado con bisulfito de sodio, utilizando primarios específicos para la condición metilada y la no metilada. Además, se analizó la expresión de la proteína BRCA1 mediante inmunohistoquímica. Un 51% (24/47) de los tumores presenta hipermetilación del promotor de BRCA1, de los cuales, un 67% (16/24) no expresa la proteína ($p=0.0199$). Estos resultados sugieren que la hipermetilación del promotor de BRCA1 es un evento importante en el silenciamiento de este gen en tumores hereditarios, sugiriendo su participación no sólo en el inicio del proceso tumoral, sino también durante el desarrollo éste. FONDECYT 1080595, Beca doctorado CONICYT.

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN EMBRIONES BOVINOS CLONADOS TRANSFERIDOS A RECEPTORAS TEMPORALES (Gene expression in cloned embryos transferred to temporary recipients) **Bertin Benavides, A.**¹, Rodríguez, L.¹, Navarrete, F.¹, Castro, F.¹, Universidad de Concepción.¹, Patrocinante: Puchi Thiele, M.

Los embriones elongados son fuente de información de la proliferación trofoblástica, diferenciación, expresión génica y de interacciones embrión-maternales. Dado que la clonación y mantenimiento de embriones bovinos son costosos, una alternativa es utilizar receptoras temporales heterólogas. Con el fin de determinar el efecto del ambiente uterino heterólogo en el embrión clonado y viceversa, se estudió la expresión de marcadores embrionarios. Examinamos marcadores moleculares, mediante RT-PCR, en embriones bovinos clonados. Estos fueron obtenidos por transferencia nuclear somática sin micromanipuladores. Los embriones fueron transferidos a receptoras intermediarias y posteriormente recuperados en estadio de elongación. Se logró la elongación de embriones clonados, tanto en ambiente heterólogo como homólogo. Se encontró expresión diferencial de marcadores embrionarios entre los embriones recuperados de úteros bovinos y ovinos. Se demostró gran diferencia en la expresión de estos marcadores en los úteros de ambas especies, detectando la presencia de la mayoría de genes embrionarios sólo en úteros ovinos. Nuestros datos confirman que los ovinos pueden ser utilizados como receptores temporales. Sin embargo el ambiente heterólogo puede afectar los patrones de expresión de los embriones clonados. Un hito importante en esta investigación es la detección de marcadores embrionarios en los úteros receptores, lo que indica una estrecha interacción molecular entre el útero y el embrión.

EFFECTO DEL HIERRO EN LA EXPRESIÓN DE LAS FERROXIDASAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA DE LAS OXIDASAS MULTICOBRE (MCO) DEL HONGO LIGNINOLITICO PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM. (Effect of iron on the expression of ferroxidases belonging to multicopper oxidase family (MCO) from the ligninolytic fungus *Phanerochaete chrysosporium*) **Canessa, P.**¹, Larrondo, L.¹, Vicuña, R.¹, Depto Genética Molecular y Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, P. Univ. Católica de Chile.¹. En el genoma de *P. chrysosporium* hemos identificado 4 genes transcricionalmente activos que codifican para oxidasas multicobre (MCO). Mediante qRT-PCR, analizamos el efecto del hierro en los niveles de transcrito de los genes *mco1*, *mco2*, *mco4* y *fet3*. El metal indujo una importante disminución en los niveles de transcrito de los cuatro genes mencionados, siendo *mco4* y *fet3* los genes cuyos mRNAs se vieron mayormente afectados. En el caso de éstos, el análisis de sus respectivos promotores permitió identificar elementos regulatorios en cis idénticos al reconocido por el factor de transcripción URBS1 de *Ustilago maydis*, el que ha sido involucrado en la represión transcripcional de sus genes blanco mediada por hierro. Estudios a nivel de la estructura primaria de MCO1, FET3 y MCO4 permiten sugerir que ésta última enzima no poseería actividad ferroxidasa como hemos demostrado previamente para MCO1. Estas observaciones se basan además en estudios bioquímicos de una versión mutante de MCO1, denominada MCO1E214A, la que al igual que MCO4, no posee un amino ácido clave involucrado en la actividad ferroxidasa. Actualmente nos encontramos estudiando la localización subcelular de MCO4, así como su actividad enzimática. FINANCIAMIENTO: Fondecyt 1070588 y MIFAB.

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES DEL HONGO *Penicillium purpurogenum* CRECIDO EN GLUCOSA Y UNA FUENTE DE CARBONO NATURAL, COSETA DE REMOLACHA (Differential expression of genes of the fungus *Penicillium purpurogenum* grown in glucose and a natural carbon source, sugar beet pulp) **Klagges, C.**¹, Eyzaguirre, J.¹, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago.¹.

El hongo de pudrición blanda *Penicillium purpurogenum* crece en diversos sustratos naturales, entre ellos coseta de remolacha, y produce una gran variedad de enzimas hemicelulolíticas, que son reprimidas por glucosa. Este trabajo plantea el estudio, a nivel transcripcional, de las enzimas que son producidas selectivamente por el hongo cuando es crecido en coseta. Se construyó una genoteca sustractiva de cDNA mediante la técnica de supresión por sustracción de secuencias mediante hibridación (PCR-SSH), eliminándose los genes constitutivos que se expresan con glucosa. Se seleccionó 101 clones por PCR y se determinó por dot blot que 80 clones tenían secuencias expresadas diferencialmente en coseta. Estos clones fueron secuenciados, obteniéndose 62 secuencias de interés. Entre ellas: secuencias relacionadas con la degradación de lignocelulosa (27,4%) (arabinofuranosidasa, endoxilanas, glicosil transferasa, beta-galactosidasa, celobiohidrolasa, fructoquinasa, pectina acetil esterasa y proteasas), secuencias homólogas a proteínas hipotéticas (35,5%) y proteínas reguladoras (6,5%), y otras que no presentan similitud con proteínas de las bases de datos (14,5%). Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1070368 y UNAB 02-08/R.

BIOMEDICINA

EXPLORANDO UN MÉTODO ALTERNATIVO DE DIAGNÓSTICO DE CÁNCER VESICAL BASADO EN LA DETECCIÓN DIFERENCIAL DE RNAs MITOCONDRIALES NO CODIFICANTES

(Exploring an alternative method of bladder cancer diagnosis based in the differential expression of non coding mitochondrial RNAs) **Rivas, A.¹**, Landerer, E.^{1,2,3}, López, C.^{2,3}, Burzio, V.^{1,2,3}, Burzio, L.^{1,2,3,4}, Villegas, J.^{1,2,3,4}, Fundación Ciencia Para la Vida¹, Instituto Milenio (MIFAB)², Universidad Andrés Bello³, Grupo BIOS⁴.

Nuestro laboratorio ha descrito una nueva familia de RNAs mitocondriales no codificantes (RNAmnc), constituido por dos grupos: el primero denominado RNAmnc sentido correspondiente al rRNA 16S que tiene covalentemente unido un fragmento proveniente del transcrito de la hebra no codificante del mismo gen. Por otro lado se identificó un segundo grupo denominado RNAmnc antisentido, correspondiente al transcrito de la hebra no codificante del gen rRNA 16S que tiene unido un fragmento proveniente del transcrito del gen rRNA 16S. Hemos determinado que el patrón de expresión de ambas familias de transcritos es diferenciada dependiendo del tipo celular: los RNAmnc sentido se expresan en células en proliferación, tanto normales como tumorales, sin embargo no se expresan en células quiescentes. Los RNAmnc antisentido se expresan sólo en células que proliferan de manera normal, y no en células tumorales o en reposo. En consecuencia, esto puede constituir una poderosa herramienta de diagnóstico. Siendo el cáncer vesical uno de los tipos de cáncer más frecuentes y su detección basada principalmente mediante metodologías invasivas, como cistoscopia o biopsias, el presente trabajo muestra los avances realizados en la recuperación de células tumorales y en la detección no invasiva de este tipo de células presentes en muestras de orina mediante la técnica de hibridación in situ (HIS) e hibridación in situ fluorescente (FISH) y su correlación con el diagnóstico del paciente (PFB-16, MIFAB P-04-071-F, FONDECYT 1085210, UNAB DI 30-06/R, FONDEF D0411338).

LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE UNA NOVEDOSA FAMILIA DE RNAs MITOCONDRIALES NO CODIFICANTES PARA EL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER PRÓSTATICO (The differential

expression of a novel family of non coding mitochondrial RNAs for the diagnosis of prostate cancer) **Landerer, E.^{1,2,3}**, Rivas, A.¹, Burzio, V.^{1,2,3}, Burzio, L.^{1,2,3,4}, Villegas, J.^{1,2,3,4}, Fundación ciencia para la Vida¹, Instituto Milenio MIFAB², Facultad de Ciencias de la Salud, UNAB³, Grupo BIOS⁴. Patrocinante: Jaime, V.

Nuestro laboratorio ha demostrado la existencia de una nueva familia de RNAs no codificantes mitocondriales (RNAmncmt), constituidos por el RNA ribosomal 16 S mitocondrial, ya sea en orientación sentido (RNAmncmt S) o antisentido (RNAmncmt AS), covalentemente unido a un repetido invertido transcrito a partir de la cadena complementaria del mismo gen. Estudios basados en hibridación in situ (HIS) han demostrado que la expresión de estas moléculas en células humanas se encuentra relacionada con el estado proliferativo de las mismas; de tal forma, las células normales proliferativas expresan en forma equivalente los RNAmncmt S y AS y las células normales quiescentes no expresan ninguno. Sin embargo, las células tumorales reprimen selectivamente la expresión del RNAmncmt AS, abriendo la puerta al desarrollo de métodos diagnósticos selectivos basados en la visualización de la expresión diferencial de ambas moléculas. Considerando que el cáncer de próstata es la segunda causa de muerte por cáncer en Chile; que la proyección para los próximos 10 años muestra un incremento en la mortalidad específica por la patología, y que la discordancia entre el análisis del estadije clínico basado en la biopsia por punción versus el estadije patológico llega al 40%, nuestro laboratorio comenzó a desarrollar una nueva aproximación diagnóstica basada en la evaluación de la expresión de los mncmtRNA S y AS, mediante HIS en biopsias prostáticas en aras de mejorar el diagnóstico. PFB-16, MIFAB P-04-071-F, FONDECYT 1085210, FONDEF D0411338, UNAB DI32-06/R, Clínica Las Condes.

ANÁLISIS GENÉTICO Y GENÓMICO EN TUMORES DESMOIDES DE PACIENTES CON POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR: COMPARACION CON EL CÁNCER COLORRECTAL (Genetic and

genomic analysis in desmoid tumors from patients with familial adenomatous polyposis: a comparison with colorectal cancer) **Alvarez, K.^{1,2}**, Orellana, P.^{1,2}, De la Fuente, M.^{1,2}, Wielandt, A.M.^{1,2}, Oyarzo, M.³, Church, J.⁴, López-Kostner, F.¹, Carvallo, P.², Unidad de Coloproctología, Clínica Las Condes¹, Departamento de Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile², Departamento Anatomía Patológica, Clínica Alemana³, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland-Ohio, USA⁴.

Una variante hereditaria del cáncer colorrectal es la poliposis adenomatosa familiar que se origina debido a mutaciones en el gen APC, y cuyos pacientes pueden además desarrollar tumores desmoides. Hasta ahora se sabe que en el desarrollo del cáncer colorrectal ocurren alteraciones en genes específicos tales como APC, KRAS, DCC y P53, sin embargo el conocimiento genético molecular es escaso para los tumores desmoides. Considerando que ambos tumores comparten la misma mutación en el gen APC, nos propusimos estudiar las alteraciones genéticas que ocurren en los tumores desmoides en comparación con la información publicada para el cáncer colorrectal. Para esto se estudiaron 6 biopsias de tumores desmoides, en las cuales se evaluó la presencia de mutaciones somáticas y/o deleciones en el gen APC, además de deleciones de los loci para DCC y P53, y mutaciones somáticas para el protooncogen KRAS. Para esto se realizaron las técnicas SSCP y secuenciación de DNA, y detección marcadores STR. Además se determinaron las alteraciones genómicas en el DNA de los tumores mediante array-CGH. Identificamos 4 tumores con alteraciones en el gen APC, una mutación somática y 3 casos con deleción, lo cual sugiere la participación de este supresor de tumores en el desarrollo del tumor desmoide. No detectamos mutaciones en KRAS, ni deleciones de los genes DCC y P53. Además, identificamos, deleciones y ganancias genómicas, siendo las más recurrentes la deleción 2q21-32 y la ganancia 11q12-13. FONDECYT 1040827, The Cleveland Clinic Foundation.

ALTERACIONES GENÓMICAS EN TUMORES DE CÁNCER DE MAMA: ANÁLISIS POR MICROARREGLOS DE DNA (Genomic

profile of breast cancer tumors: an array-CGH analysis) **Hurtado, C.¹**, Alvarez, C.¹, Solís, L.², Henriquez, I.², Corvalán, A.², Alvarez, M.³, Rozenblum, E.⁴, Munroe, D.⁴, Carvallo, P.¹, Depto. Biología Celular y Molecular, Fac. Cs. Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile², Centro de Cáncer, Fac. Medicina, P. Universidad Católica de Chile³, Lab. Mol. Technology, SAIC-Frederick, NCI-Frederick, USA⁴.

Una de las estrategias más usadas en la identificación de genes supresores de tumor y protooncogenes que participan en el desarrollo del cáncer de mama es la búsqueda de alteraciones genómicas, tales como deleciones y amplificaciones génicas. Nosotros analizamos el DNA genómico de 77 biopsias tumorales de 52 pacientes con cáncer de mama hereditario (45 BRCA1, 3 BRCA2) y de 25 esporádicos mediante la técnica de Hibridación Genómica Comparativa en microarreglos de DNA (array-CGH) para identificar deleciones y amplificaciones genómicas. Nuestro análisis reveló que las biopsias de cáncer hereditario presentan un perfil de deleciones y ganancias diferente a las de tumores esporádicos. Estas diferencias incluyen deleciones en: 8p23, 11p15-p14, 12p13, 16p13 y 17p12, (BRCA1); 2q22, 3p21, 10q21, 12q13 y 17q21 (BRCA2); 1q32-q41, 2q34-q35, 3p12, 4q28, 13q12-q13 (BRCA1); 1p36-p33, 1q24-q25, 3p14, 7q11-q21, 11p15, 11q22-q24, 17p13 (esporádicos). Adicionalmente, observamos distintas ganancias genómicas, incluyendo las regiones: 1q, 3q25, 16pter-p13, 17q12-q21, 17q24, 19p13-ter y 20q11 (BRCA1); 3q25, 6q22, 11q12 y 22q12 (BRCA1); 1q32, 2q24, 6p21 y 9p21 (BRCA2); 1p21, 7q31, 17q21 y 19p13 (esporádicos). Identificamos algunos genes supresores de tumor de conocida participación en cáncer, MLH1, ATM y RASSF1; así como protooncogenes, WNT2, VAV1, CCNL1 y SRC. Las diferencias genómicas encontradas entre ambos grupos de tumores sugiere la participación de mecanismos moleculares diferentes en el desarrollo de tumores esporádicos y hereditarios, probablemente influenciado por la presencia de mutaciones en la línea germinal en los tumores hereditarios. FONDECYT 1080595 y 3070021.

CONCERTACIÓN ENTRE MUERTE CELULAR TIPO I Y II EN CÉLULAS TUMORALES AL INTERFERIR CON EL RNA MITOCONDRIAL NO-CODIFICANTE ANTISENIDO (RNAm_{ntc})

(Cross-talk between cell death type I and II of tumor cells by interference of antisense non-coding mitochondrial RNA (ncmtRNA))
Vidaurre, S.^{1,2}, Burzio, V.³, Villegas, J.³, Burzio, L.³. FUNDACIÓN CIENCIA PARA LA VIDA, MIFAB, GRUPOBIOS,¹, UNAB², FUNDACIÓN CIENCIA PARA LA VIDA, MIFAB, GRUPOBIOS, UNAB³.

Hemos descrito y caracterizado una nueva familia de RNAs no-codificante de origen mitocondrial, los cuales presentan un repetido invertido (RI), de longitud variable, covalentemente unido al extremo 5' del rRNA 16S mitocondrial. Estudios de hibridación in situ revelan un patrón de expresión diferencial entre células normales en proliferación y células tumorales. Células normales en proliferación expresan un transcrito sentido y dos tipos de transcritos antisentido, en cambio, en células tumorales sólo se expresan el transcrito sentido reprimiendo los transcritos antisentido. El tratamiento in vitro en líneas celulares tumorales con oligonucleótidos induce una masiva muerte celular, mientras que células normales no son afectadas por el mismo tratamiento. La muerte celular inducida por el tratamiento presenta los típicos cambios morfológicos y moleculares de una muerte celular tipo I (translocación de fosfatidilserina, activación de caspasas, condensación nuclear y fragmentación del DNA). Adicionalmente hemos observado que esta muerte está precedida por eventos asociados a autofagia, tal como, vacuolización citoplasmática y observación de estructuras multilamelares, y colapso mitocondria. Nuestros resultados indican que habría una concertación de eventos asociados a la muerte celular tipo I y II.

LINFOCITOS INFECTADOS CON VIRUS HTLV-1 PRODUCEN CAMBIOS EN EL CITOESQUELETO NEURÍTICO DE CÉLULAS PC12

(HTLV-1 infected lymphocytes produce changes in the neuritic cytoskeleton of PC12 cells) **Pando, M.E.¹**, Kettlun, A.M.¹, Maldonado, H.¹, Ramírez, E.², Cartier, L.³, Alberti, C.¹, Escudero, C.⁴, Collados, L.¹, Valenzuela, M.A.¹. Depto Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.¹, Programa de Virología, Facultad Medicina, Universidad de Chile. ISP², Depto Ciencias Neurológicas, Facultad Medicina³, Depto Fisiología, Fac Ciencias Biológicas, PUC⁴.

La paraparesia espástica asociada a al retrovirus HTLV-1 se caracteriza por la degeneración axonal en el haz córtico-espinal, que se propone debido a la acción de la proteína viral Tax secretada desde linfocitos infectados. Alteraciones en la dinámica de los microtúbulos y mantención del citoesqueleto de actina pueden causar degeneración neurítica. Se utilizó como modelo células PC12 diferenciadas y cocultivadas a través de membrana semipermeable con células linfocitarias MT2 que contienen el provirus, o con su control K-562. Mediante "western blot" de PC12 lisadas se determinó diferentes formas modificadas de tubulina relacionadas con la estabilidad de microtúbulos, y de la forma activa de GSK-3 β que junto con CDK5 fosforila a MAP1B, asociada con la estabilidad del cono de crecimiento axonal. La detectó Tax en los cultivos de MT2 por inmunofluorescencia. Se encontró un aumento de tubulina tirsosinada (mayor inestabilidad) en PC12 expuestas a MT2 y una disminución de la forma activa de la GSK-3 β señalando que podría estar afectada la normal función de la MAP1B, proteína que asocia los citoesqueletos de microtúbulos-actina. La presencia de productos secretables de MT2 también retardaron el inicio de la diferenciación. Todo esto hace pensar que Tax puede causar cambios en el cono de crecimiento axonal, causando retracción en las neuronas. Actualmente se está trabajando en la síntesis de Tax recombinante a partir del RNAm obtenido de MT2 para ver el efecto directo de Tax sobre los cultivos de PC12. Financiamiento Fondecyt 108 0396.

DETECCION PRECOZ DEL CANCER DE CUELLO DE UTERO ASOCIADO A LA INFECCIÓN DE HPV (early detection of cervix cancer associated to the HPV infection) **Villota, C.¹**, villa, I.², boccardo, e.², gaete, f.³, burzio, L.⁴. fundacion ciencia para la vida¹, ludwig institute for cancer research², hospital luis tizne³, fundacion ciencia para la vida⁴.

hemos identificado y caracterizado una nueva familia de RNAs no codificantes de origen mitocondrial (RNAm_{ntc}, de RNA mitocondria no codificante), formada por transcritos sentido y antisentidos. Al comparar la expresion de estos RNAs en células tejidos normales y en tumores (biopsias) hemos demostrado que existe una expresion diferencial de estos transcritos. Las células presentes en tejido normal expresan niveles muy semejantes de los RNAm_{ntc} Sentido y Antisentido. Sin embargo, la contraparte tumoral, expresa el RNAm_{ntc} sentido pero reprime los RNAm_{ntc} Antisentido. Este fenomeno ha sido encontrado en una gran cantidad de tipos tumorales analizados, tanto en humano como en modelo murino. Conjuntamente con estos resultados, hemos determinado que un nuevo RNAm_{ntc}, el cual no se expresa en células tumorales ni en células normales, es expresado en células inmortalizadas con el Virus del Papiloma Humano (HPV). La expresión de este nuevo RNA ha permitido identificar células inmortalizadas o pretumorales tanto in vitro, como en biopsias de cuello de útero. De esta manera hemos podido identificar estas células pretumorales en Biopsias de pacientes correspondientes a estadios tempranos en el desarrollo del cancer de cuello de útero (Neoplasia intraepitelial grado 1 y 2) y esto nos ha permitido establecer una relacion entre la expresion de los RNAm_{ntc} y los estadios de desarrollo del cancer uterino, lo que en conjunto con los analisis anatomopatológicos realizados en la actualidad, podrían mejorar enormemente la detección de lesiones precursoras del cáncer de cuello de útero.

EL VIRUS RESPIRATORIO SINICIAL INHIBE LA ACTIVACION DE LINFOCITOS T MEIOIANTE INTERFERENCIA DE LA SINAPSIS INMUNOLOGICA CON CELULAS DENDRITICAS

(Respiratory Syncytial Virus Impairs T Cell Activation By Preventing Synapse Assembly With Dendritic Cells) **González, P.A.¹**, Prado, C.E.¹, Leiva, E.D.¹, Carreño, L.J.¹, Bueno, S.M.¹, Riedel, C.A.², Kalergis, A.M.³. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹, Departamento de Cs. Biológicas, Universidad Andrés Bello², Departamento de Genética Molecular y Microbiología y Departamento de Reumatología, Facultad de Ciencias Biológicas y Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile³.

El Virus Respiratorio Sincicial (VRS) es una de las primeras causas mundiales de hospitalización infantil y constituye un serio problema económico para los sistemas de salud pública. Estudios recientes in vitro e in vivo sugieren que VRS puede prevenir la activación de células T. Por otro lado, las células dendríticas (DCs) son células presentadoras de antígeno profesionales que poseen la capacidad de modular y activar linfocitos T helper (Th) antígeno-específicos. Por este motivo, sería provechoso para VRS interferir con la función de DCs e impedir la inducción de una respuesta inmune T. En este estudio caracterizamos el efecto de VRS sobre DCs y su capacidad de activar a linfocitos T na \tilde{a} ve mediante ensayos de co-cultivo. Observamos que DCs infectadas con VRS son incapaces de activar linfocitos T antígeno-específicos y como resultado de esta interacción, los linfocitos T adquirieron un fenotipo anérgico. Más aun, la acción de VRS involucró la inhibición de la formación de sinapsis inmunológica entre DCs y linfocitos T. Nuestros datos sugieren que la interferencia con la formación de sinapsis inmunológica entre estas células podría contribuir a la patogénesis de VRS evadiendo la respuesta inmune y reduciendo la eliminación de virus mediada por linfocitos T.

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE PLANTAS

ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE TRANSPORTADORES DE BORO EN FRUTALES (Structural and functional analysis of boron transporter in fruit crops) **Cañon, P.¹**, Aquea, F.¹, Rodríguez, A.¹, Bisquertt, A.¹, Arce-Johnson, P.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

El boro está involucrado principalmente en la formación de la pared celular y en la elongación del tubo polínico, por lo que es un micronutriente fundamental para el desarrollo normal de las plantas. Se cree que es absorbido como ácido bórico por las raíces en forma pasiva, aunque evidencias sustentan la presencia de un transportador activo. El rango entre déficit y toxicidad al boro es muy estrecho, por lo que la regulación entre la absorción y exclusión en la célula son fundamentales para mantener su homeostasis. Se ha descrito que frente al déficit de boro en el medio, existe un transportador de boro (BOR1) responsable de movilizar el boro desde las raíces hacia los brotes, permitiendo el crecimiento normal de la planta. Si bien este proceso se ha descrito en *Arabidopsis thaliana* y en monocotiledóneas, en frutales no se han identificado aún genes homólogos a BOR1. Utilizando bases de datos de ESTs hemos identificado y clonado genes homólogos a BOR1 en *Citrus macrophylla* y *Vitis vinifera*. Estos genes poseen un ORF de 2145pb y 2148pb respectivamente. Ambos codifican para una posible proteína de 10 dominios transmembrana y mediante fusión a GFP, presentan localización en membrana plasmática. Ensayos funcionales, utilizando complementación en levaduras mutantes, demuestran que ambos genes codifican para transportadores de boro en plantas. Agradecimientos: Conicyt, Proyecto INNOVA CHILE 204-4037, Nucleo Mileno en Genómica Funcional de Plantas.

CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DEL GEN VvZIP INVOLUCRADO EN TRANSPORTE DE ZINC EN BAYAS DE Vitis vinifera CV. CARMENERE. (Structural and functional characterization of the gen VvZIP involved in zinc transport in grapes of *Vitis vinifera* cv. Carmenere) **Gainza, F.I.¹**, Pérez, R.¹, González, E.¹, Ruiz-Lara, S.¹. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca¹.

En *Vitis vinifera*, la deficiencia en zinc, micronutriente esencial, se manifiesta fundamentalmente, afectando la fructificación y el desarrollo de las bayas. Ello otorga especial relevancia a la absorción y transporte de zinc tanto en el proceso de cuaja de frutos como en el desarrollo de bayas partenocárpicas no semilladas. En plantas, los mecanismos de captación y distribución de zinc involucran la participación de una variedad de transportadores que controlan la homeostasis de Zn. Un grupo de ellos, denominados ZIP, están relacionados con la captación de este metal a nivel radicular. El gen VvZIP que codifica para una proteína similar a transportadores ZIP ha sido identificado en vides. Estudios de complementación en levaduras indican que funcionalmente la proteína codificada corresponde a un transportador de entrada de zinc. Al analizar la expresión de este gen se estableció su expresión en diferentes tejidos de *Vitis vinifera* cv. CarménAre incluyendo flores y frutos determinándose que su actividad transcripcional se encuentra reprimida en bayas no semilladas, lo que sugiere una asociación del evento partenocárpico con alteraciones en el transporte y homeostasis de zinc.

UNA MUTANTE EN LA UGGT DE ARABIDOPSIS THALIANA, UNA ENZIMA CLAVE EN CONTROL DE CALIDAD EN RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO, MUESTRA ALTERACIONES MORFOLÓGICAS. (An *Arabidopsis thaliana* mutant in the UGGT, a key enzyme in quality control at the endoplasmic reticulum, shows morphological alterations.) **Tapia, R.¹**, Reyes, F.¹, Orellana, A.¹. Universidad Nacional Andrés Bello¹.

La presencia de un residuo terminal de glucosa en N-oligosacáridos de polipéptidos recientemente sintetizados, constituye una señal para la asistencia de chaperonas durante el proceso de plegamiento en el lumen del retículo endoplasmático (ER). La enzima responsable del reconocimiento de proteínas mal plegadas y de la adición del residuo de glucosa es la UDP-glucosa glicoproteína: glucosiltransferasa (UGGT). Esta enzima es una pieza clave en el proceso de control de calidad que ocurre al interior del ER y su función ha sido estudiada principalmente en eucariotes unicelulares y no en individuos multicelulares. Por esto, decidimos analizar el rol de esta enzima en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*. Primero, detectamos bioquímicamente la actividad UGGT en fracciones enriquecidas de ER de *Arabidopsis*. El análisis de N-oligosacáridos producidos en este ensayo, confirmó la especificidad de la enzima. El genoma de *Arabidopsis* posee un único gen que codifica para esta enzima. Líneas homocigotas mutantes fueron aisladas y posteriormente caracterizadas. Las plantas mutantes poseen raíces más cortas que las plantas silvestres y además son plantas de menor tamaño, esto sugiere un rol importante para la UGGT en la elongación celular y la secreción de proteínas en *Arabidopsis thaliana*. Fondecyt 1070379, PCB-MN ICM P06-065-F, PFB-16.

EFFECTO DEL ETILENO EN LA FORMACIÓN DE AROMAS Y ALCOHOL ACIL TRANSFERASA EN PERAS PACKHAM'S TRIUMPH (Effect of ethylene on aroma formation and alcohol acyl transferase in Packham's Triumph pears) **Fuentes, L.¹**, Valdenegro, M.¹, Herrera, R.¹, Moya-León, M.¹. Laboratorio de Fisiología Vegetal, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹

La pera es un fruto climatérico cuya maduración es regulado por etileno. Durante ésta se produce un alza en la producción de etileno lo que va acompañado del desarrollo de aromas. En peras el aroma es proporcionado principalmente por ésteres, sintetizados por la enzima alcohol-acil-transferasa (AAT). Para dilucidar el rol de etileno sobre la producción de volátiles y actividad de AAT, se evaluó el efecto de 1-MCP (bloqueador del receptor de etileno). Para esto, peras Packham's Triumph fueron tratadas con 1-MCP (200 ppb) o con Ethrel (2000 ppm). Luego de ello la fruta fue mantenida 13 días a 20°C, evaluando periódicamente la producción de etileno, compuestos volátiles y actividad AAT. Fruta tratada con 1-MCP presentó una menor tasa de producción de etileno y de compuestos volátiles que fruta tratada con Ethrel. Lo anterior coincidió con una menor actividad de AAT en frutos tratados con 1-MCP. Además la actividad AAT de pulpa supera a la de piel. Estos resultados indican que etileno tiene un rol importante sobre la actividad de AAT y en la generación de ésteres en pera. Agradecimientos a Proyecto PBCT-Postdoctorado (PSD-61) y a Claudia Moggia.

DEFICIENCIA EN LA FUNCIÓN DEL COMPLEJO II MITOCONDRIAL PRODUCE UN AUMENTO DE LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA EN *Arabidopsis thaliana* (Impairment in mitochondrial complex II produces an increase of photosynthetic activity in *Arabidopsis thaliana*) **Fuentes, D.^{1,2}, Nunes-Nesi, A.², Araujo, W.², Gómez, I.¹, Fernie, A.², Jordana, X.¹** Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹, Max Planck Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Alemania²

SDH1-1 es un gen que codifica para la flavoproteína, una de las subunidades de la succinato deshidrogenasa o complejo II mitocondrial. En nuestro grupo hemos caracterizado una línea heterocigota mutante *SDH1-1/sdh1-1* y dos líneas silenciadas en el gen *SDH1-1*, y las utilizamos ahora para estudiar el rol del complejo II en tejido fotosintético. Observamos que las plantas de la línea mutante y de las silenciadas son de mayor tamaño que las plantas silvestres. Cuando analizamos distintos parámetros fisiológicos encontramos que la asimilación de CO₂ y la conductancia estomática están aumentadas tanto en las plantas mutantes como en las silenciadas, y esto se correlaciona con una mayor apertura estomática. Finalmente, cuando fusionamos el promotor del gen *SDH1-1* al gen reportero GUS observamos una expresión elevada del gen *SDH1-1* en los estomas. Los resultados de este trabajo muestran que una alteración en la función de complejo II mitocondrial produce un aumento en la fotosíntesis, probablemente mediado por un cambio en la función estomática. Fondecyt 1060485, Beca de pasantía al extranjero CONICYT y VRAID, Beca AT 24080100 Núcleo Milenio P06-009-F.

ANÁLISIS FUNCIONAL DE UNA PROTEÍNA TIPO LECTINA (LLP) INDUCIDA POR ÁCIDO SALICILICO EN LA RESPUESTA DE DEFENSA A ESTRÉS EN ARABIDOPSIS (Functional analysis of a SA-inducible lectin like protein (LLP) in the stress defense response in *Arabidopsis*) **Armijo, G.¹, Salinas, P.¹, Leiva, D.¹, Tapia, J.¹, León, L.¹, Loreto, H.¹** Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹.

El ácido salicílico (SA) es una hormona crucial para el establecimiento de la respuesta de defensa a estrés, ya que posee la capacidad de inducir la expresión de genes claves en este proceso. En estudios anteriores, mediante un análisis del transcriptoma de *Arabidopsis*, nuestro laboratorio identificó un grupo de genes tempranamente inducidos por SA. Dentro de ellos, el gen LLP posee el mayor nivel de activación y es transcripcionalmente inducido por SA y por inoculación con *Pseudomonas syringae* pv tomato (Avr Rpm1). El producto de LLP no ha sido asociado a una función biológica. Para evaluar la función de LLP en la respuesta de defensa a patógenos, hemos desarrollado líneas transgénicas sobreexpresoras, fusionadas al epítopo c-Myc o a la proteína GFP. En paralelo, hemos aislado y caracterizado una línea homocigota, mutante insercional para el gen. Actualmente evaluamos la respuesta de estas líneas a la inoculación con la bacteria *Pseudomonas syringae* pv tomato (AvrRpm1). Los resultados obtenidos indican que LLP estaría involucrada en la respuesta de defensa contra esta bacteria. Financiado por FONDECYT-CONICYT (1060494) y Núcleo Milenio Genómica Funcional Plantas (P06-009-F).

EL GEN LOCHI CODIFICA PARA UNA ENDOQUITINASA DE CLASE III QUE ES EXPRESADO ESPECÍFICAMENTE EN RAÍCES Y NÓDULOS DE LOTUS SP. E INDUCIDO POR EFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO. (LoChi gen coding for Class III endochitinase that is specifically expressed in roots and nodules of Lotus sp. and is induced by effect of water deficit) **Tapia, G.¹, Acuña, H.¹** Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA-Quilmapu¹. **Patrocinante Ruiz-Lara, S.**

Las quitinasas son enzimas que catalizan la hidrólisis de enlaces B-1,4-glicósidos, presentes en biopolímeros de N-acetil-D-glucosamina (Quitina). Las quitinasas pueden ser clasificadas en dos categorías: Exoquitinasas y Endoquitinasas según su capacidad de atacar enlaces entre monómeros de los extremos o internos. En plantas, estas enzimas cumplen una función importante en la defensa contra el ataque por patógenos, aunque también se ha descrito su inducción frente a daño mecánico, ozono, metales pesados, frío y salinidad. Así mismo, se ha descrito su rol en la regulación de la concentración de factores de nodulación (Nod) en algunas especies leguminosas. Utilizando una metodología basada en annealing control primer, se aisló un fragmento génico cuya secuencia traducida posee una alta homología con la superfamilia 18 de las glicosil hidrolasas. Mas específicamente, la secuencia aislada posee una alta conservación en residuos aminoácidos con la familia de endoquitinasas de clase III en diversas especies leguminosas, tales como *Sesbania rostrata*, *Medicago sativa*, *Glycine max* y *Vigna unguiculata*. Los análisis de expresión génica muestran que este gen es sobreexpresado durante estrés hídrico en nódulos de Lotus sp. Así mismo, su expresión es acotada a raíces y nódulos. Los análisis bioinformáticos han predicho con una alta confiabilidad la presencia de un péptido señal de localización extracelular. Los resultados sugieren que esta endoquitinasa actuaría como una nodulina de expresión tardía, de forma similar a Srch13 de *S. rostrata* limitando la acción de factores Nod. Agradecimientos: Proyecto LOTASSA.

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA GLOBAL EN RESPUESTA A LA INFECCIÓN VIRAL DURANTE EL PROCESO DE MADURACIÓN EN *Vitis vinifera* (Analysis of gene expression in response to viral infection through ripening in grape berries) **Vega, A.¹, Medina, C.¹, Arce-Johnson, P.¹** Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹

Los virus causan enfermedades crónicas en vides, sin que se hayan descrito reacciones de resistencia. Estas infecciones generan cambios en la planta, que se traducen en una disminución en el crecimiento, deformación de hojas y alteraciones en la calidad de los frutos, entre otros. Los síntomas que causan los virus han sido previamente descritos pero se desconocen los procesos fisiológicos involucrados, especialmente su efecto en el desarrollo y maduración del fruto. El objetivo de este trabajo es estudiar cambios moleculares que ocurren en los frutos de *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon durante la infección por el virus GLRaV3. Se realizó un análisis de la expresión génica global en frutos provenientes de plantas sanas e infectadas mediante el microarreglo GeneChip de Affymetrix en dos estados de maduración. Se identificaron un total de 116 genes en el estado de pinta (inicio de maduración) y 906 genes en baya madura con expresión diferencial entre los frutos de plantas infectadas y plantas sanas. El análisis funcional de estos genes indica que la respuesta de defensa, estrés y senescencia, como también, la biosíntesis de metabolitos primarios y secundarios, se encuentran afectados. Esta expresión diferencial podría explicar los cambios fisiológicos observados en frutos de plantas infectadas. Agradecimientos: CONICYT, 07GENOMA01, Consorcio del Vino INNOVA 05CTE01-03, VINNOVA.

Paneles

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS; ENZIMOLOGÍA**1. ENZIMA BIFUNCIONAL DE LA FAMILIA 43 DE LAS GLICOSIL HIDROLASAS DE *Penicillium purpurogenum* CON ACTIVIDAD BETA-D-XILOSIDASA Y ALFA-L-ARABINOFURANOSIDASA: PURIFICACIÓN, PROPIEDADES Y SECUENCIA AMINOACÍDICA**

(Bifunctional family 43 glycoside hydrolase from *Penicillium purpurogenum* with beta-D-xylosidase and alpha-L-arabinofuranosidase activities: Purification, properties and amino acid sequence) **Ravanal, M.C.**¹, Eyzaguirre, J.¹, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago.¹

El hongo *Penicillium purpurogenum* secreta al medio de cultivo una gran variedad de enzimas xilanolíticas, entre ellas tres arabinofuranosidasas (ABF 1, 2 y 3). En este trabajo nos referiremos a la arabinoturanosidasa 3 (ABF3). Esta enzima fue purificada a homogeneidad y caracterizada: es un monómero glicosilado con un peso molecular de 47.500 (determinado por SDS-PAGE), y un pI (medido por isoelectroenfoque) de 5,8. La ABF3 es una enzima bifuncional que actúa sobre los sustratos artificiales p-nitrofenil alfa-L-arabinofuranósido (pNPAra) (Km: 0,65±0,075 mM) y p-nitrofenil beta-D-xilopiranosido (pNPXyl) (Km de 12,03±2,68 mM). En ambos casos la enzima sigue una cinética tipo Michaelis-Menten. El pH óptimo es 5,0 y la temperatura óptima de 50 °C. Se evaluó la acción sobre sustratos naturales tales como arabinano y arabinano desramificado de remolacha y arabinoxilano de trigo. La enzima hidroliza preferentemente arabinosa unida a xilosa que arabinosa unida a otra arabinosa, lo que se determinó enzimáticamente. Se secuenció el gen de la abf3 y su cDNA. No se observaron intrones y la proteína madura consta de 388 aminoácidos con un peso molecular calculado de 42 226. Se han encontrado 5 posibles sitios de N-glicosilaciones y el alineamiento de la secuencia de ABF3 con otras proteínas homólogas muestra que la enzima pertenece a la familia 43 de las glicosil hidrolasas. Este trabajo informa sobre la primera enzima bifuncional de eucariotes descrita en esta familia. Financiamiento: FONDECYT (1040201 y 1070368) y Universidad Andrés Bello (01-05/1).

3. PURIFICACIÓN Y PROPIEDADES DE LA FERULOIL ESTERASA 4 DE *Penicillium purpurogenum*

(Purification and properties of *Penicillium purpurogenum* feruloyl esterase 4) **Rosa, L.**¹, González, A.^{1,2}, Eyzaguirre, J.¹, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago.¹, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.²

La degradación de la lignocelulosa y de residuos agroindustriales permite utilizar estas fuentes para generar energía renovable (biocombustibles) y obtener compuestos químicos. Los hongos poseen un gran potencial para producir enzimas capaces de degradar los polisacáridos de la pared celular vegetal (celulosa, hemicelulosas y pectinas). La hidrólisis completa de estos polisacáridos requiere enzimas que actúen sobre su cadena principal y, en el caso de hemicelulosas y pectinas, sus ramificaciones. Las enzimas desramificantes incluyen glicanasas y esterases. Entre estas últimas están las feruloil esterases (FAEs, EC 3.1.1.73) que liberan ácidos hidroxycinámicos, en particular el ácido ferúlico y diferulatos. Estos ácidos son de interés por sus propiedades antioxidantes. En sobrenadantes de cultivo en coseta de remolacha del hongo *Penicillium purpurogenum* se ha descrito la presencia de aproximadamente 5 isoenzimas de FAEs. La coseta es un producto de desecho de la industria azucarera que contiene un 1% de ácido ferúlico. Nuestro grupo está abocado al estudio de las propiedades de estas enzimas. En este trabajo se informan los resultados obtenidos con una de ellas, denominada FAE 4. Se purificó la enzima a homogeneidad. Esta tiene una masa molecular de 50 kDa, un pI de 5,9, un pH óptimo de 8,0, T^o óptima de 30°C y un módulo de unión a celulosa. Es activa frente a los sustratos metil umbeliferil dihidroferulato (dMUF) y metil umbeliferil acetato (MUA), con una razón de actividad dMUF/MUA de 0,07. Financiamiento: FONDECYT Proyectos 1040201 y 1070368 y Proyecto.

2. IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE COMPLEJOS MULTIENZIMÁTICOS SECRETADOS POR *Penicillium purpurogenum*

(Identification and analysis of multienzyme complexes secreted by *Penicillium purpurogenum*) **González, A.**^{1,2}, Navarrete, M.¹, Eyzaguirre, J.¹, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago.¹, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.²

El hongo *Penicillium purpurogenum* es un activo secretor de enzimas hemicelulolíticas que son producidas al cultivarlo en diversas fuentes de carbono. Nuestro grupo ha orientado su investigación en las enzimas capaces de degradar el xilano (mayor componente de las hemicelulosas). La degradación completa del xilano requiere la cooperación de múltiples enzimas que actúan sinérgicamente para mejorar la hidrólisis de estas complejas estructuras. Nuestro estudio indica que estas enzimas pueden formar parte de complejos proteicos (xilanosomas) que contienen acetil xilano esterases, feruloil esterases, xilanasas, beta-xilosidasas, arabinofuranosidasas y celulasas. Este tipo de organización minimiza la pérdida por difusión de los productos y facilita el sinergismo y la estabilidad. Poco se sabe sobre los xilanosomas y las interacciones enzima-enzima presentes en este tipo de complejos. Se aislaron 2 xilanosomas provenientes del cultivo en coseta de remolacha, 2 de corona de maíz y 3 de xilano acetilado determinando su peso molecular (400-750 kDa) mediante electroforesis Blue Native acoplada a zimogramas y análisis cromatográficos. Los ensayos enzimáticos y dot blots muestran la presencia de múltiples enzimas y la co-inmunoprecipitación corrobora su existencia. Diferencias en actividades enzimáticas y composiciones proteicas de acuerdo al sustrato utilizado para cultivar el hongo e interacciones proteína-proteína reflejan una sofisticada organización. Una mayor comprensión de este tipo de interacciones podría llevar a una mejora en la formulación de mezclas enzimáticas con propósitos biotecnológicos, tales como la sacanificación de la lignocelulosa y otros. Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1070368.

4. FUNCIÓN DE TIROSINA207 EN LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE *S. CEREVISIAE*

(Role of tyrosine207 in *S. cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase) **Andrade, C.**¹, Cardemil, E.¹, Jabalquinto, A.¹, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) cataliza la reacción de descarboxilación de oxaloacetato (OAA) en presencia de ATP/GTP y Mn²⁺ para dar fosfoenolpiruvato (PEP), ADP/GDP y CO₂. El sitio activo de estas enzimas presenta un residuo de tirosina estrictamente conservado, para el cual se han sugerido distintas funciones. Así, a partir de las estructuras cristalinas de estas enzimas en complejo con distintos sustratos, se ha propuesto que el extremo electropositivo del anillo aromático de la tirosina interactúa con el grupo carboxilato del PEP, por otra parte se ha propuesto que el grupo hidroxilo de la tirosina establece un enlace de hidrógeno con el CO₂. En este trabajo se evalúa el rol de Tyr207, eliminando el anillo aromático y el grupo hidroxilo, al reemplazarlo por leucina. Los estudios cinéticos en dirección de formación de OAA muestran que la mutante Y207L presenta una disminución de 25 veces en la V_{max} y con un aumento de 9 veces en la constante de afinidad de la enzima por el Mn con respecto a la enzima silvestre, respectivamente. La Km para bicarbonato aumentó significativamente. Se concluye que tirosina 207 es relevante para la afinidad de la enzima por el metal y está implicada en la interacción con CO₂. Financiado por FONDECYT 1070202 y DICYT-USACH 02-0741JL.

5. PROPIEDADES DE UNA INUSUAL AGMATINASA (Properties of an unusual agmatinase) **Mella, C.¹**, Castro, V.¹, Martínez, F.², García, M.d.I.A.², Bustos, P.³, Carvajal, N.⁴, Cifuentes, M.⁵, Uribe, E.⁶. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.¹, Departamento de Biología Celular.², Departamento de Bioquímica Clínica.³, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.⁴, Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, Universidad de Málaga.⁵, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción.⁶.

La agmatina resulta de la descarboxilación de la arginina y se le asocia a una serie de acciones biológicas, incluso a nivel de neurotransmisión. Recientemente, hemos clonado una proteína que podría regular sus niveles en el cerebro. Aunque presenta actividad agmatinasa, no tiene relación de secuencia con las agmatinasas clonadas hasta ahora y, a diferencia de estas, presenta un dominio del tipo LIM que une Zn²⁺. Sin embargo, es reconocida por un anticuerpo anti-agmatinasa de *E. coli*. Por su parte, un anticuerpo contra nuestra proteína reconoce a la agmatinasa bacteriana, pero no a la arginasa, que pertenece a la misma familia de proteínas. Ambos anticuerpos reconocen a una proteína en cortes de cerebro de rata. Por otro lado, la dependencia de Mn²⁺ que presenta la proteína recombinante de cerebro no está relacionada con el dominio tipo LIM. En efecto, una proteína truncada, que no lo contiene, es inactivada por diálisis contra un quelante, siendo reactivada por el ion metálico. Concluimos que, a pesar de las diferencias en secuencia, nuestra proteína y la agmatinasa bacteriana comparten importantes homologías estructurales. FONDECYT 11070069.

7. PREFERENCIA POR COFACTORES EN GLUCOSA-6-P DESHIDROGENASA DE *Escherichia coli* (Preference for cofactors in glucose-6-P dehydrogenase from *Escherichia coli*) **Olavarría, K.¹**, Muñoz, R.², Cabrera, R.¹. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.¹, Universidad Andrés Bello.².

La glucosa-6-P deshidrogenasa (G6PDH) de la vía de las pentosas-P se considera una de las principales fuentes de NADPH. Homólogos de esta enzima en distintos organismos pueden usar NADP⁺ como sustrato, aunque en varios casos se han reportado enzimas que pueden usar NADP⁺ y NAD⁺ (duales). Aunque se considera que la enzima de *Escherichia coli* es específica para NADP⁺, no se ha definido la preferencia en términos de kcat/Km. En este trabajo se observó la distribución filogenética de la especificidad por cofactores en la familia de G6PDHs, así como también se purificó y se caracterizó cinéticamente la preferencia por NADP⁺ o NAD⁺ en la G6PDH de *E. coli*. Se recopilaron bibliográficamente los datos cinéticos para 17 organismos. En general, las Km para NADP⁺ son del orden micromolar, en tanto que las de NAD⁺ presentan una variación mayor. Se observa en un dendrograma filogenético (realizado por el método de neighbor joining) para secuencias bacterianas y eucariotas alineadas con ClustalW, que las enzimas con dualidad no se distribuyen en un clado segregado de las NADP⁺-específicas. La G6PDH de *E. coli* fue expresada desde el vector pSU18, y fue purificada en tres etapas de separación cromatográfica: en DEAE, hidroxilapatita y sephacryl-200. La enzima pura (> 95% de pureza) fue caracterizada cinéticamente en condiciones de velocidad inicial usando NADP⁺ o NAD⁺ como sustrato, resultando en una preferencia de alrededor de 5500 veces por NADP⁺ sobre NAD⁺. Proyecto DI 12 06/02-2 Universidad de Chile.

6. PARTICIPACIÓN DEL ASP-204 EN LAS INTERACCIONES INTERMONOMÉRICAS DE LA ARGINASA TIPO I: PROPIEDADES DE LA MUTANTE D204A. (Participation of Asp 204 in the intermonomeric interactions of arginase type I: Properties of the D204A mutant.) **Lobos, M.¹**, Uribe, E.¹, García, D.¹, Orellana, M.S.¹, Fuentealba, P.¹, Carvajal, N.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción.¹.

La arginasa tipo I es trimérica y en la interfaz subunidad-subunidad presenta un motivo C-terminal en forma de S. En él se destaca la Arg-308, que forma un enlace salino intermonómero con el Asp-204 de la subunidad adyacente, y cuyo reemplazo por alanina genera monómeros. En este trabajo, describimos los efectos estructurales y cinéticos del reemplazo de Asp-204 por alanina. La mutante D204A resultó activa y, prácticamente, equivalente a la enzima silvestre en cuanto a valores de Km, kcat, afinidad por omitina y clorhidrato de guanidina (análogo de la urea) y emisión de fluorescencia de triptófanos. Sin embargo, a diferencia de la silvestre, la mutante resultó ser monomérica, con una menor afinidad por el metal activador (Kd un orden de magnitud mayor). A diferencia de la mutante R308A, la cinética de la especie D204A a pH 7,5 fue hiperbólica aún en presencia de bajas concentraciones de guanidina. Los resultados apoyan un rol clave del Asp-204 en la estabilización del trimero de arginasa, y corroboran la acción de guanidina imitando al grupo guanidino de la Arg308 en la mutante R308A. FONDECYT 1070467.

8. ANÁLISIS TERMODINÁMICO DEL DESPLEGAMIENTO DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 A TEMPERATURAS BAJAS Y ALTAS. (Thermodynamic analysis of the thermal unfolding of phosphofructokinase-2 at low and high temperatures.) **Baez, M.¹**, Wilson, C.A.¹, Babul, J.¹. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.¹.

Fosfofructoquinasa-2 (Pfk-2) de *E. coli* es un homodímero estabilizado por un dominio grande y uno pequeño que provee los contactos interfaciales entre las subunidades. La estabilidad de ambos dominios parece depender de la formación de la interfaz a juzgar por la disociación y desplegamiento concertado observado en presencia de cloruro de guanidinio (GdnHCl). No obstante, se ha propuesto que el desplegamiento de proteínas inducido por la disminución de la temperatura ocurre a través de un mecanismo no cooperativo. Mediciones de diroismo circular muestran que el contenido de estructura secundaria de la Pfk-2 disminuye por debajo de 15 y por sobre de 37 gradC llegando a valores similares a 3 y 53 gradC. Ambas transiciones fueron sigmoideas y sensibles a la concentración de proteína, sugiriendo la formación cooperativa de monómeros de similar conformación a temperaturas bajas y elevadas. El ajuste de ambas transiciones a un modelo concertado de disociación y desplegamiento produce un deltaCp de 7,8 kcal/mol/K y un deltaH de 620 kcal/mol, indicando que el dímero está estabilizado por 10,5 kcal/mol a 20 gradC. Por otra parte, el valor de deltaCp predice que el monómero obtenido a bajas temperaturas está altamente hidratado, lo que es coherente con el volumen calculado para esta especie en presencia de GdnHCl a 20 gradC. Estos resultados indican que la disociación de la Pfk-2 inducida por frío procede sin intermediarios adicionales respecto al desplegamiento inducido por calor y GdnHCl. Fondecyt 1050818.

9. ANÁLISIS FUNCIONAL Y ESTRUCTURAL DE LOS SITIOS DE UNIÓN DE LIGANDOS EN QUINASAS DEPENDIENTES DE ADP DEL DOMINIO ARQUEA (Structural and functional analysis of ligand binding sites in ADP-dependent glucokinases of the archaea domain) **Olate, F.¹**, Guixé, V.². Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello.¹, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.².

Las arqueas *Thermococcus litoralis* y *Pyrococcus furiosus* presentan una vía de Embden-Meyerhoff modificada, donde la actividad glucoquinasa utiliza ADP, en vez de ATP, como dador de fosforilo. En este trabajo las enzimas de ambos microorganismos se purificaron a homogeneidad y se caracterizaron cinética y estructuralmente. La enzima de *T. litoralis* es un monómero con una masa molecular de 52 kDa, mientras que la enzima de *P. furiosus* es un homodímero de aproximadamente 93 kDa, cuyo estado de agregación no cambia en presencia de glucosa, ADP ó DTT. Ambas enzimas utilizan ADP, CDP, glucosa y maltosa en forma significativa, en tanto que ninguna de ellas reconoce al ATP como sustrato. La eficiencia catalítica para ADP, CDP y glucosa es 2, 1,7 y 3 veces mayor para la enzima de *P. furiosus*. La unión de los ligandos se determinó por equilibrio de diálisis ya que aunque ambas enzimas poseen 4 triptófanos, éstos no son sensibles a la unión de ADP o glucosa. La unión de glucosa sólo pudo determinarse en presencia de AMP, con Kd de 1,2 y 0,9 mM para la enzimas de *T. litoralis* y *P. furiosus* respectivamente. Los resultados sugieren que ambas enzimas reconocen tanto purinas como pirimidinas y que la estructura de los grupos fosfatos es fundamental en el reconocimiento de este ligando. Además, de los experimentos de unión se predice un mecanismo de unión de sustratos de tipo ordenado. Proyecto Fondecyt 1070111.

11. ESTUDIOS ESTRUCTURALES DE FICOBILISOMA DE GRACILARIA CHILENSIS (Structural studies of phycobilisomes from *Gracilaria chilensis*) **Meza, C.¹**, Martínez-Oyanedel, J.¹, Bunster, M.¹. Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción.¹

Cianobacterias y algas rojas han debido adaptarse a la calidad y cantidad de luz presente en su hábitat optimizando su captación mediante complejos multiproteicos llamados ficobilisomas (PBS), que presentan alta eficiencia (>95%) en la conducción de energía hacia los centros fotosintéticos. Los PBS de *Gracilaria chilensis* están compuestos por 3 ficobiliproteínas organizadas en un centro de Aloficocianina, del cual irradian varillas compuestas por Ficoeritrina y Ficoeritrina. Además presentan proteínas linker que determinarían la estructura del PBS. Se ha visto una relación entre la presencia de ciertas proteínas linker y el tipo de organización que presenta el centro del PBS. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio han permitido determinar la presencia de una proteína linker core-membrana (L_{CM}) de 110 kDa, que según bibliografía corresponde con un centro pentacilíndrico, pero aún falta evidencia experimental que avale esto. Es por esto que es importante realizar nuevos estudios estructurales del PBS y plantear un modelo estructural utilizando estas nuevas evidencias experimentales. Para confirmar esta hipótesis se estandarizó una técnica de ultracentrifugación en gradiente discontinuo de sacarosa donde se obtuvieron fracciones enriquecidas de ficobilisomas completos, los cuales fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas de fluorescencia y absorción y estudios de electroforesis en gels de poliacrilamida en gradiente (6-15%). De las fracciones enriquecidas en ficobilisomas completos, se seleccionan algunas para ser analizadas por microscopía electrónica de transmisión, donde se buscan las mejores condiciones para obtener una fotografía que nos muestre la estructura del PBS. Financiamiento: FONDECYT 108.0267.

10. FOSFORILACION DE LA SUBUNIDAD CK2 β POR LA PROTEINA QUINASA CK1 α (Phosphorylation of the CK2 β subunit by protein kinase CK1 α) **Pérez, C.¹**, Jedlicki, A.¹, Budini, M.¹, Allende, J.E.¹. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile.¹.

Las caseína quinasas CK1 y CK2 son serina/treonina quinasas conservadas en la evolución y universalmente expresadas en células eucariontes. Con respecto a estructura, CK1 es un monómero, mientras que CK2 es un heterotetramero compuesto por dos subunidades catalíticas (α , α') y dos subunidades reguladoras (β). En la proteína quinasa CK2, la subunidad β tiene por función incrementar la estabilidad térmica y modular la actividad catalítica de la subunidad α . No obstante, también se ha observado que tanto CK2 α como CK2 β tienen funciones independientes de la holoenzima. En cuanto a la regulación de CK2, se ha sugerido que esta se efectuaría mediante la interacción de sus subunidades con otras proteínas. Esta hipótesis no ha sido comprobada. Estudios iniciales en nuestro laboratorio mostraron que CK1 α fosforila a CK2 β , y mediante análisis de espectrometría de masas fue posible identificar dos sitios de fosforilación: S205 y T213. Considerando estos resultados y la estructura heterotetramérica determinada por cristalografía, postulamos un posible mecanismo de regulación de CK2 mediante fosforilación de CK2 β en una secuencia necesaria para unir CK2 α . Experimentos preliminares de coinmuno precipitación con CK2 α indican que la fosforilación de CK2 β por CK1 α disminuye la afinidad entre las subunidades de CK2. Trabajos en marcha se encuentran enfocados a la realización de mutaciones de los sitios de fosforilación a ácido glutámico, y a analizar si CK2 β es capaz de ser fosforilada por CK1 α formando parte de la holoenzima.

12. DETERMINACIÓN DE PARAMETROS ESPECTROSCÓPICOS DE R-FICOERITRINA DE GRACILARIA CHILENSIS (DETERMINATION OF THE ESPECTROSCOPIC PARAMETERS OF R-PHYCOERYTHRIN OF GRACILARIA CHILENSIS)

Sepúlveda-Ugarte, J.¹, Martínez-Oyanedel, J.¹, Bunster, M.¹. Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.¹

Los Ficobilisomas son complejos proteicos accesorios de captación de luz presentes en algas rojas y cianobacterias. Estos complejos recolectan y transfieren luz hacia los sistemas fotosintéticos de estos organismos, con una eficiencia >95%. Esta alta eficiencia se debe a la presencia de cromóforos, tetrapirroles lineales unidos a residuos de cisteína. R-Ficoeritrina, uno de los componentes proteicos del ficobilisoma, presenta como cromóforos dos Ficoeritrobilinas en la subunidad α y en la subunidad β dos Ficoeritrobilinas y una Ficoeritrobilina. La conducción de luz en el ficobilisoma se describe mediante el mecanismo denominado FRET (fluorescence resonance energy transfer), el cual considera parámetros estructurales y espectroscópicos de los cromóforos. Se desconocen los parámetros espectroscópicos de los cromóforos de Ficoeritrina, por lo que los cálculos de las vías de transferencia de luz son bastante aproximados. Para obtener estos parámetros debemos contar con cada cromóforo aislado y en un ambiente semejante al de la proteína. En el presente trabajo se purificó Ficoeritrina de *Gracilaria chilensis*. Además se aislaron sus subunidades y se obtuvieron cromopeptidos, los cuales fueron aislados mediante HPLC en fase reversa. Finalmente, R-Ficoeritrina nativa, sus subunidades y los cromopeptidos fueron caracterizados espectroscópicamente, determinándose los espectros de absorción, espectros de emisión de fluorescencia, tiempo de vida media de fluorescencia, rendimiento cuantico e integral de solapamiento en cada caso. Estos parámetros nos permiten describir los cromóforos presentes en Ficoeritrina, y a su vez las vías preferenciales de Transferencia de Luz en el Ficobilisoma. Financiamiento: Fondecyt 108.0267.

BIOINFORMÁTICA-ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS

13. MODELAMIENTO MOLECULAR DE LA VPAAT1 DE VASCONCELLEA PUBESCENS: PREDICCIÓN DE UN POSIBLE MECANISMO CATALÍTICO (Molecular modelling of VpAAT1 from *Vasconcellea pubescens*: prediction of a possible catalytic mechanism) **Morales-Quintana, L.¹**, Gaete-Eastman, C.¹, Herrera, R.¹, Moya-León, M.¹. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹

El aroma es un carácter complejo, determinado por compuestos volátiles de bajo peso molecular. En *Vasconcellea pubescens* es producido principalmente por ésteres, mediante reacciones de esterificación entre alcoholes y acil CoAs catalizadas por la enzima Alcohol Acil Transferasa (VpAAT). Para conocer el mecanismo molecular de acción de VpAAT, se utilizó modelamiento comparativo para construir la estructura de la enzima, la cual fue validada y refinada mediante dinámica molecular. El modelo resultante mostró que la proteína está formada por 15 hojas y 14 hélices, el sitio activo de la proteína es el segmento HTMSD y se encuentra en un loop entre la hoja 7 y la hélice 5, además H166 se encontraría expuesta en un canal de solvente presente en la enzima, permitiendo la interacción con el sustrato. Por Docking molecular se exploraron las conformaciones de interacción entre la proteína y sus ligandos. Para la interacción con alcoholes y acil CoAs, se sugiere que la conformación más estable del complejo se produciría uniendo primero Acil CoA a la proteína, a cuyo complejo, debido a los cambios conformacionales producidos por este ligando, ingresaría el alcohol. Financiado por Proyecto Anillo ACT-41.

14. PREDICCIÓN DE ESTRUCTURA DE WNT3A UTILIZANDO MÉTODOS COMBINADOS DE MODELAMIENTO (Structure prediction of Wnt3a using combinatory methods of protein modelling) **Burgos Arias, F.¹**, Cárdenas Inostroza, P.¹, Martínez-Oyanedel, J.², De Ferrari Valentini, G.¹. Laboratorio de Genética y Transducción de Señales, Universidad de Concepción¹, Laboratorio de Biofísica Molecular, Universidad de Concepción².

Mediante el uso de herramientas de modelamiento molecular combinadas se ha generado un modelo de Wnt3a, ligando de la vía de señalización Wnt. Dada la ausencia de estructuras relacionadas se hace necesario realizar un enfoque múltiple utilizando información obtenida de predicciones de estructura secundaria (JUFO, JPreD3, PSIPred) y programas de modelamiento molecular (I-TASSER, Modeller y Phyre). En primera instancia se generó un primer set de 5 estructuras usando I-TASSER, de los cuales 3 modelos se usaron en las siguientes etapas y cuya elección se realizó basada en cálculos energéticos y estructurales obtenidos por Anolea, Prosa y Procheck. Adicionalmente se comparó la estructura secundaria predicha y la obtenida en los modelos observándose correlación entre ambos parámetros, principalmente en la región N-terminal donde se localizan hélices que podrían estar asociadas a su función. A continuación, los modelos seleccionados fueron utilizados como plantillas para un paso de refinamiento con Modeller donde se generó un segundo grupo de estructuras y se complementó el modelamiento del extremo C-terminal con la predicción de estructura dada por Phyre. Posteriormente las cadenas laterales se adicionaron utilizando SCWRL3.0. Finalmente, se realizó un proceso de minimización de energía usando GROMACS, con el campo de fuerza OPLS y se trabaja en la parametrización del grupo prostético palmitoil que es agregado postraduccionalmente al esqueleto proteico. Esta estructura permitirá estudiar posibles sitios de interacción con otros miembros de la vía y determinar regiones implicadas en su función. Financiado: Anillo ACT-04.

15. ESTUDIOS IN SILICO DE RESIDUOS INVOLUCRADOS EN LA UNIÓN DE SUSTRATOS PARA PIRIDOXAL E HIDROXIMETILPIRIMIDINA QUINASAS. (In silico studies of residues involved in binding of substrate for pyridoxal and hydroxymethylpyrimidine kinases.) **Ramírez, C.¹**, Guixé, V.¹, Cabrera, R.¹. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.¹

Dentro de la superfamilia riboquinasa se agrupan enzimas cuya estructura terciaria es altamente conservada, las cuales catalizan la transferencia de un grupo fosforilo hacia un sustrato determinado. Estas enzimas pueden ser distinguidas de acuerdo a su especificidad de sustrato, la adición de elementos de estructura secundaria y la presencia de un dominio de menor tamaño. Se ha sugerido que los miembros más pequeños de esta superfamilia son representativos de la topología ancestral.¹ En este trabajo, se estudiaron *in silico* las quinasas de piridoxal e hidroximetilpirimidina, mediante la utilización de un alfabeto estructural unidimensional (PBE; de Brevern y cols), en correlato con un alineamiento derivado de las estructuras presentes en la base de datos. Los motivos NXXE y GXGD, comunes para la superfamilia, se encuentran definidos por el mismo patrón estructural en todos los miembros sin dominio menor. A través de esta metodología, se determinó un motivo estructural para la unión de piridoxal (*d/d/T/K/H*) e hidroximetilpirimidina (*c/d/d/c/H*). Además, es posible distinguir que la piridoxal quinasa de *Bacillus subtilis* (código PDB 215B) presenta un motivo estructural de unión de piridoxal de mayor semejanza al de hidroximetilpirimidina (*c/d/d/c/H*), lo cual es coherente con su semejanza estructural frente a este grupo de enzimas (Rice y cols). Finalmente, se realizaron experimentos de unión de sustratos *in silico* mediante AUTODOCK para verificar la importancia de los residuos correspondientes a cada motivo estructural, trabajando sobre diversos modelos de mutantes generados por métodos bioinformáticos. Fondecyt 1070111.

16. ESTUDIO DE LA DINÁMICA CONFORMACIONAL DE CANALES DE POTASIO ACTIVADOS POR VOLTAJE EN ARABIDOPSIS THALIANA (Study of conformational dynamics of voltage-gated potassium channels in *Arabidopsis thaliana*) **Morales, S.¹**, González, W.¹, Dreyer, I.², González, F.¹. Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca.¹, Universität Potsdam, Institut für Biochemie und Biologie, Heisenberg-Gruppe Biophysik und Molekulare Pflanzenbiologie, Germany.²

El potasio (K⁺) es crucial en muchos procesos metabólicos en las células vegetales. Los canales de la familia Shaker, median la mayoría de las corrientes de K⁺ en la membrana plasmática de estos organismos, siendo activados por voltaje y con topología consistente en cuatro subunidades de seis segmentos transmembrana (S1-S6) cada una, siendo S4 el sensor de voltaje, y S5-S6, el poro de conducción de los iones que alberga el motivo GYGD que le confiere la selectividad a K⁺. La familia Shaker en plantas, incluye canales rectificadores de entrada (Kin), activados a voltajes negativos, y canales rectificadores de salida (Kout), activados a voltajes positivos. Kin y Kout, aunque presentan una estrecha similitud estructural, difieren en la sensibilidad al voltaje y a la concentración extracelular de K⁺ para su apertura, lo que aumenta las interrogantes sobre las razones moleculares que involucran estas diferencias. En este contexto, KAT1 (Kin) y SKOR (Kout), son sistemas modelo para el análisis estructura-función. El proceso de activación de los canales de K⁺ puede ocurrir frecuentemente a escala de tiempo fisiológico, pero son menos frecuentes a escala de tiempo de dinámica molecular (DM). Una herramienta de DM que intenta superar este problema, es Targeted Molecular Dynamics (TMD), que permite guiar una proteína hacia una conformación de interés. De esta manera, TMD fue usado para acelerar la transición conformacional entre el estado abierto y cerrado de KAT1 y SKOR, permitiéndonos analizar, a nivel molecular, sus diferencias funcionales.

17. DETERMINACIÓN DE LA ENERGÍA LIBRE DE UNIÓN DE INHIBIDORES SELECTIVOS DE 12 Y 15 LIPOXIGENASA HUMANA (hLOX) A TRAVÉS DE MÉTODOS DE PERTURBACIÓN DE ENERGÍA LIBRE (FEP)

(free energy determination of selective inhibitor union of human 12 and 15 lipoxigenase (hLOX) through methods of molecular dynamics (FEP)) **Poblete, H.¹, Nuñez, G.^{1,2}, Gonzalez-Nilo, F.², Mascayano, C.¹** Universidad de Santiago de Chile¹, CBSM Universidad de Talca². **Patrocinante: Gonzalez-Nilo, F.** Las Lipoxigenasas (LOX) son una familia de dioxigenasas que contienen hierro no hémico Fe(III) en su sitio activo y catalizan la inserción estereoespecífica de oxígeno sobre el sustrato natural ácido araquidónico. Las Lipoxigenasas humanas (hLOX) están relacionadas a diferentes enfermedades según la posición en que esta dioxigena el ácido araquidónico, por ejemplo: 5-hLOX a cáncer prostático y asma; 15-hLOX a cáncer rectal y arteriosclerosis, y 12-hLOX a cáncer de tórax y psoriasis. Las estructuras de LOX muestran una zona hidrofóbica donde el ácido araquidónico interacciona con el hierro coordinado de forma octaédrica. Los flavonoides han demostrado poseer variadas aplicaciones terapéuticas, debido principalmente a su poder antioxidante y su capacidad para coordinarse con metales pesados. Estudios biológicos han demostrado que dichos compuestos son potentes y selectivos inhibidores de 12 y 15-hLOX. Medidas de IC50 con distintos flavonoides e isoflavonoides, revelaron que la introducción de grupos electroattractores en dichas moléculas favorece la selectividad frente a 12-hLOX. Mediante técnicas de simulación de acoplamiento proteína-ligando "docking" se analizaron las interacciones generadas entre los flavonoides y la enzima. Posteriormente, se realizó un estudio más detallado, usando el método de perturbación de energía libre (FEP) los resultados de energía libre de unión obtenidos muestran, que la presencia de grupos electroattractores en la posición 4' del anillo B fueron claramente más favorables energéticamente que compuestos que carecían de dicha sustitución. Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 11075047.

19. ESTUDIO DE LA INHIBICIÓN DE 12 Y 15 LIPOXIGENASA HUMANA (hLOX) MEDIANTE DOCKING Y SIMULACIÓN MOLECULAR DIRIGIDA (SMO) (study of inhibition of 12 and 15 human lipoxigenase (hLOX) through Docking and Steered Molecular Dynamics) **Nuñez, G.¹, Poblete, H.², Mascayano, C.², González-Nilo, D.¹** UNIVERSIDAD DE TALCA¹, UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE².

Las lipoxigenasas (hLOX) son dioxigenasas que contienen hierro no hémico en su sitio activo, catalizan la inserción estereoespecífica del oxígeno molecular al ácido araquidónico. En mamíferos las hLOX están clasificadas de acuerdo a la posición de dioxigenación en el ácido araquidónico como 5-LOX, 8-LOX, 12-LOX y 15-LOX. Estas hLOX están involucradas en diferentes enfermedades, tales como cáncer prostático, asma, cáncer de tórax, psoriasis, cáncer colorectal y arteriosclerosis. La dioxigenación del ácido araquidónico es consecuencia de una serie de reacciones en donde el hierro cumple un rol fundamental. En la literatura existen inhibidores específicos para 5-hLOX y 15-hLOX, pero no para 12-hLOX. Un grupo de inhibidores de gran importancia por su amplia variedad de aplicaciones médicas son los flavonoides (antimicrobianos, anticancerígenos, antivirales, antioxidantes, etc). Se realizaron ensayos de IC50 con alrededor de 40 compuestos frente a 12-hLOX y 15-hLOX, revelando una interesante selectividad. Debido a lo anterior, se escogieron los isoflavonoides que exhibieron dicha selectividad y se observó que la presencia de un grupo electroattractor en la posición 4' del anillo B de la cromona favorece la selectividad hacia 12-hLOX. Para validar estos datos experimentales, se trabajó mediante "docking" y simulación molecular dirigida (Steered) a partir de los modelos de 12-hLOX y 15-hLOX. Análisis comparativos entre IC50, energías de "docking" y fuerzas ("Steered"), nos permitieron definir la forma de entrada de dichos inhibidores y cuáles son las claves estructurales de importancia para generar la selectividad en las hLOX. Agradecimientos Proyecto FONDECYT N° 11075047.

18. ESTUDIO DE LA DESCARBOXILACIÓN DE OXALOACETATO EN PRESENCIA DE Mn^{++} COMO CATALIZADOR EN LA PROTEÍNA FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXIQUINASA

(Descarboxylation study of oxaloacetate and Mn^{++} as catalyzer in phosphoenolpyruvate carboxylase) **Lopez, X.¹, Henríquez, J.², Cardemil, E.³, Gonzalez, D.⁴** Universidad de Talca, Talca¹, Instituto de Química, Universidad de Talca, Talca², Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago, Santiago³, Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, Talca⁴. Este trabajo evalúa la influencia del catión Mn^{++} en la descarboxilación de la molécula de oxaloacetato. Este sistema reducido es una primera aproximación al proceso realizado por la proteína fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), la cual participa en la vía de la gluconeogénesis, esencial para la formación de glucosa a partir de precursores no glucocídicos. La PEPCK cataliza la descarboxilación/carboxilación del oxaloacetato gracias a una coordinación del compuesto orgánico con parte del sitio activo de la proteína, el catión Mn^{++} , el que completa una geometría octaédrica con los aminoácidos esenciales de esta proteína. El sistema estudiado es una reducción del sitio activo, el cual proviene de un modelo por homología hecho para la PEPCK de *S. cerevisiae*, que utiliza como estructura de referencia los datos cristalográfica de PEPCK de *E. coli* [Matte et al. J. Mol. Biol. 256, 126-143, 1996]. En una primera aproximación a la coordinación del compuesto orgánico, los aminoácidos circundantes al centro metálico de interés han sido reemplazados por moléculas de agua. Una etapa más avanzada se ha realizado incluyendo los aminoácidos que se coordinan al Mn^{++} (K213, K256, H233, D264). Los resultados de este sistema indican que la coordinación de la molécula de oxaloacetato se realiza por medio de dos átomos de oxígeno cargados negativamente. De esta misma forma se observa una fuerte influencia de los aminoácidos coordinados en las propiedades electrónicas del Mn^{++} , lo cual influye en la reacción de descarboxilación. Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1070202, Proyecto AnilloACT/24.

20. ESTUDIO DE PERFIL DE ENERGÍA LIBRE DE IONES DE K^{+} EN EL CANAL DE POTASIO TASK-2. (Free energy profile of a K^{+} ion in TASK-2 potassium channel.) **Navarro, C.¹, Sepúlveda, F.², Chipot, C.³, González-Nilo, D.¹** UNIVERSIDAD DE TALCA¹, CENTRO DE ESTUDIOS CIENTÍFICOS, VALDIVIA², UMR CNRS/UHP, FRANCIA³.

TASK-2 es un canal de potasio perteneciente a la familia KCNK, la que se caracteriza por formar dímeros. Cada subunidad contiene cuatro segmentos transmembranales y dos dominios de poro (P). TASK-2 pertenece a la subfamilia de Canales alcalino-activados. Experimentalmente se han propuesto varios sensores de pH para TASK-2. Nuestro grupo demostró que la neutralización de una arginina (ARG224) cercana al poro, es el sensor de pH de TASK-2. Estudiando la conductancia de los iones de potasio en TASK-2, se puede deducir que el potencial electrostático y las perturbaciones generadas por el cambio del estado de protonación de los residuos sensores regulan el nivel de ocupancia y/o estabilidad conformacional del filtro de selectividad, lo que además podría generar la inactivación tipo C del canal. Para este estudio se aplicó el método ABF (Adaptive Biasing Force) implementado en NAMD. En los cálculos de ABF realizados para obtener el perfil de energía libre, se implementó una serie de restricciones sobre los iones de potasio alternados con agua, estos fueron ubicados en sitios específicos en el filtro de selectividad. Se realizaron simulaciones para los distintos estados de protonación de la ARG224. Los resultados obtenidos sugieren que trasladar el ión desde el sitio S0 con ambas ARG224 neutras presenta una menor barrera energética que con ambas ARG224 cargadas, lo que se correlaciona con los resultados experimentales observados. Estos resultados permiten analizar a nivel atómico los eventos que gobiernan la activación de TASK-2. Agradecimientos: FONDECYT N° 1070722.

21.ROL DE RESIDUOS HIDRÓFOBOS EN LA CONDUCTANCIA DEL CANAL DE POTASIO HSLO (Role of hydrophobic residues in conductance of hSlo potassium channel) **Marquez, V.¹, Gonzalez, W.¹, Latorre, R.², Gonzalez-Nilo, F.¹**. UNIVERSIDAD DE TALCA¹, UNIVERSIDAD DE VALPARAISO².

Los canales de K⁺ dependientes de voltaje y de calcio intracelular se caracterizan por presentar una alta conductancia, que en el caso del canal de potasio humano hSlo alcanza los 250 pS. Todos los canales de potasio presentan residuos conservados en el filtro de selectividad, indispensables en el reconocimiento del ion K⁺. Estudios experimentales en el canal de potasio hSlo que el residuo F380 posee un rol crítico en la cinética de activación del canal. Mutaciones sitio dirigidas de este residuo han revelado una disminución significativa en la conductancia intracelular. Nuestro estudio se enfoca en la caracterización de la función del residuo F380 en la conductancia a través del canal de potasio hSlo silvestre y la mutante F380A. Para tal efecto, se realizaron simulaciones de Dinámica Molecular Dirigida, técnica que aplica fuerzas externas a sistemas, en un contexto de no equilibrio, obteniéndose así un perfil de energía libre a lo largo de una coordenada de reacción, utilizando la identidad determinada por Jarzynski. Resultados preliminares han concluido que la conductancia en el tipo silvestre está más favorecida energéticamente que en la mutante. Para caracterizar la interacción cation-pi entre el residuo F380 y el catión K⁺, y de esta forma, obtener una posible relación entre sus propiedades aromáticas e hidrófobas en su importancia para la conductancia del canal, se aplicaron estudios químico-cuánticos de energías de interacción. Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1070049, Proyecto Anillo Científico ACT/24.

22. PROPIEDADES ESTRUCTURALES Y ELECTROSTÁTICAS EN LA VÍA DE CONDUCCIÓN IÓNICA DEL CANAL DE POTASIO (K⁺) SHAKER Y EL MUTANTE P475D. (Structural and Electrostatic properties in the permeation pathway of Shaker potassium channel and the mutant P475D) **Vergara-Jaque, A.¹, Naranjo, D.², González-Nilo, D.¹**. UNIVERSIDAD DE TALCA¹, UNIVERSIDAD DE VALPARAISO².

Los Canales potasio dependientes de voltaje abren y cierran el poro en respuesta a cambios en el voltaje de la membrana, permitiendo así la conducción de iones. Estos canales presentan una elevada selectividad sobre el ión potasio, determinada por la secuencia aminoacídica TVGYG altamente conservada entre dichos canales. De acuerdo a esto la conductancia unitaria entre ellos debería ser similar, sin embargo varía considerablemente entre un canal y otro. En el canal Shaker la secuencia PVP del segmento S6, forma una compuerta de entrada que se cierra ante un negativo voltaje de membrana, no obstante la mutación de la segunda prolina por ácido aspártico, bajo estas condiciones, muestra una conductancia ~10 veces mayor a la del canal silvestre. El objetivo de este trabajo es determinar las propiedades estructurales y electrostáticas que gobiernan las variaciones en la conductancia entre el canal Shaker silvestre y el mutante P475D. Para realizar este estudio se utilizaron técnicas de simulación molecular, acompañadas de cálculos de potencial electrostático en la vía de conducción iónica. El análisis de las propiedades estructurales y electrostáticas correlacionadas con la conductancia del canal, muestra que el incremento de ésta se debe al anillo de cargas negativas formado por residuos aspartato, los cuales aumentan el potencial electrostático en la cavidad interna del poro, generando como consecuencia un aumento en la concentración local de iones K⁺ y, por lo tanto, una mayor probabilidad de este catión en esta región del canal. Agradecimientos ACT/46.

MICROBIOLOGÍA

23. ESTUDIO BIOFÍSICO DE LA PROTEÍNA DE MEMBRANA EXTERNA OMPW DE SALMONELLA ENTERICA SEROVAR TYPHIMURIUM INCORPORADA EN BICAPAS PLANAS LIPÍDICAS FRENTE AL TÓXICO METIL VIOLÓGENO (Biophysical Study of the outer membrane protein OmpW from Salmonella enterica serovar Typhimurium incorporated on planar lipidic bilayers affected by Methyl Viologen toxic) **Delgado, M.G.^{1,2}, Pacheco, N.¹, Gil, F.¹, Vergara, C.², Saavedra, C.¹**. Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad Andrés Bello¹, Laboratorio de Fisiología Celular, Universidad de Chile².

La caracterización de porinas de bacterias Gram negativo ha contribuido a la comprensión de la fisiología bacteriana. Son canales acuosos que permiten la difusión pasiva de solutos hidrofílicos, nutrientes o tóxicos. Su naturaleza explica el desarrollo bacteriano en ambientes diversos, la resistencia a drogas y algunos aspectos de su patogenicidad en el hospedero. Se demostró que el gen ompW de Salmonella Typhimurium es requerido para la resistencia a metil viológeno (MV), compuesto gatillador de estrés oxidativo y su expresión se induce en presencia de este tóxico. Estudios de transporte in vivo con [14C]-MV demostraron que el tóxico es expulsado de la célula y cepas mutantes en el gen ompW ven disminuida su salida. En este trabajo, mediante la reconstitución de la proteína OmpW purificada en bicapas lipídicas planas y condiciones de voltaje controlado, se establecieron las características electrofisiológicas de ésta, la cual presenta al menos dos niveles de conductancia (130 y 40 pS en 100 mM KCl). Se analizó el comportamiento de OmpW frente a MV. En presencia del tóxico a concentraciones en el rango de 60 a 100 mM, el canal cambia su cinética, permaneciendo un mayor tiempo en el estado abierto. El nivel mayor de conductancia de Potasio disminuye en un 50%. Finalmente, datos preliminares indican que el tóxico es conducido a través de la proteína en un solo sentido.

24. LA CARENCIA DE POLIFOSFATOS INORGÁNICOS AFECTA LA RESISTENCIA A METALES PESADOS EN *Pseudomonas* sp. B4 (Lack of inorganic polyphosphates affects heavy metal resistance in *Pseudomonas* sp. B4) **Mauriaca, C.¹, Chávez, F.P.¹, Jerez, C.A.¹**. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Depto. Biología, Facultad de Ciencias e ICDB, Universidad de Chile¹. Todos los seres vivos poseen polifosfatos (poliP), que son biopolímeros lineales formados por residuos de ortofosfato unidos por enlaces fosfoanhídrido. La bacteria *Pseudomonas* sp. B4 es una bacteria degradadora de los contaminantes ambientales policlorobifenilos (PCBs), y es capaz de acumular una gran cantidad de poliP en diferentes condiciones de cultivo. Para estudiar comparativamente el efecto que tiene la carencia de poliP en células enfrentadas a metales, hemos utilizado una cepa control y otra recombinante de esta bacteria, con niveles deficientes en los poliP. Nuestros resultados indican que la presencia del poliP en la célula es importante para la resistencia a algunos metales pesados como el Cu, Fe y Cd. La presencia de Cu desde el comienzo del crecimiento, fenómeno de adaptación, generó un alargamiento de la fase de latencia, que fue mayor para la cepa con niveles nulos de poliP. Además, cuando cultivos crecidos sin Cu se enfrentaron a dicho metal, ocurrió una baja considerable del número de células viables en el cultivo, lo que fue seguido de una recuperación, cuya rapidez dependería de los niveles de los poliP en la célula previo al estrés inducido por el metal. Los resultados obtenidos apoyan la participación de los poliP como una molécula protectora frente a diversos tipos de estrés, y en particular en la función reguladora de la resistencia frente a los metales pesados. Financiado por proyectos FONDECYT 1070986, 11070180 y proyecto ICM P05-001-F.

25. PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS PEPTIDOS ANTIMICROBIANOS PRODUCIDOS POR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

(Purification and characterization of novel antimicrobial peptides secreted by *Pseudomonas aeruginosa*) Ferrer, A.¹, Navarro, M.¹, Saavedra, J.M.¹, Tello, M.^{1,2}, Corsini, G.¹ Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales¹, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile².

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram negativa perteneciente a la rama gamma de las proteobacterias. En nuestro laboratorio nos ha interesado analizar aislados clínicos de esta bacteria como modelo para estudiar un nuevo tipo de bacteriocinas, producidas por Gram negativas pero que tiene su efecto sólo sobre bacterias Gram positivas. Analizando una colección de 120 aislados clínicos de *P. aeruginosa* mediante ensayos sobre césped hemos encontrado 35 aislados que producen sustancias antibacterianas termoestables de naturaleza proteica. Estas proteínas, que hemos denominado gicinas, poseen actividad antimicrobiana sólo sobre bacterias Gram positivas. Empleando columnas hidrofóbicas hemos purificado 3 de estas proteínas (gicina A, gicina B y gicina C). Las tres gicinas purificadas presentan actividad sobre cepas de *S. aureus*, *S. pyogenes*, *B. cereus* y *L. monocytogenes*. Mediante geles de poliacrilamida-SDS y activogramas determinamos que gicina A y C poseen una masa molecular aproximada de 8000 Da, en cambio gicina B tiene una masa de 3000 Da aproximadamente. Mediante HPLC en fase reversa y espectrometría de masa determinamos que gicina A posee una masa molecular de 7924 Da. Gicina A y C son termoestables en un amplio rango de temperatura (4-100 °C) y presentan un pH óptimo de 7. Estas bacteriocinas son producidas durante fase exponencial de crecimiento, y el análisis del perfil de crecimiento de cepas tratadas con estas proteínas antimicrobianas, revela que gicina A y C ejercen su acción sobre bacterias Gram positivas, mediante un efecto bacteriolítico. Financiamiento: VRA-UDP CG13.03.25.013.

27. ESTUDIO DE PROTEÓMICA DIFERENCIAL EN *Pseudomonas sp. B4* CON NIVELES DEFICIENTES DE POLIFOSFATOS

(Differential proteomic studies in *Pseudomonas sp. B4* containing low levels of polyP) Varela, C.¹, Jerez, C.A.¹, Chávez, F.P.¹ Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Depto. Biología, Facultad de Ciencias e ICDB, Universidad de Chile.¹

El polifosfato inorgánico (poliP) es un polímero lineal de residuos ortofosfato ampliamente distribuido en los organismos vivos. En *Pseudomonas sp. B4*, sus niveles celulares presentan variaciones importantes según la condición fisiológica y/o ambiental en que se encuentre el microorganismo. También se ha demostrado que las células con niveles deficientes de poliP son incapaces de moverse, formar biopelículas y además disminuye su capacidad de sobrevivir en condiciones de estrés. Para estudiar desde un punto de vista global este fenómeno realizamos experimentos de proteómica diferencial en *Pseudomonas sp. B4* con niveles deficientes de poliP y en diferentes condiciones de cultivo y fases del crecimiento. Encontramos que la disminución de los poliP aumenta los niveles de las chaperonas y los factores de protección contra el estrés oxidativo; de las enzimas involucradas en el ciclo de Krebs y la beta oxidación de ácidos grasos, así como de la síntesis del ATP y la biosíntesis de los aminoácidos. Por otro lado, estos bajos niveles de poliP disminuyen la expresión de los transportadores de membrana y de los factores de degradación de las proteínas, la transcripción y la motilidad. Estos resultados sugieren que los poliP están relacionados con el metabolismo energético primario, con los procesos celulares de respuesta al estrés y con el transporte activo de moléculas en la membrana celular. Financiado por proyectos FONDECYT 1070986, 11070180 y proyecto ICM P05-001-F.

26. EL GEN *yggE* DE *Escherichia coli*: UNA DEFENSA CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO

(The *yggE* gene from *Escherichia coli*: a defense against oxidative stress.) Acuña, L.¹, Calderón, I.², Elías, A.¹, Sandoval, M.¹, Castro, M.¹, Vázquez, C.¹ Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile¹, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile².

El telurito de potasio (K_2TeO_3) es tóxico para muchos organismos y a la fecha no se conocen mecanismos específicos de resistencia bacteriana a K_2TeO_3 . No obstante, se ha postulado que su toxicidad se debería en parte a la generación de superóxido que ocurre concomitantemente con la reducción intracelular de telurito a telurito elemental (TeK^0). En este trabajo, se estudió la potencial función antioxidante de la proteína periplásmica YggE de *Escherichia coli* frente a los generadores de anión superóxido telurito de potasio y paraquat (PQ). YggE se encuentra conservada en otras bacterias y su función es desconocida. Mutantes *yggE* muestran niveles aumentados de superóxido dismutasa (SOD), fumarasa C (FumC) y especies reactivas de oxígeno. Estos valores se redujeron a niveles normales por complementación genética. Por otro lado, cepas que sobreexpresan *yggE* mostraron mayor resistencia a K_2TeO_3 y a PQ, además de una disminución en la oxidación de proteínas y en las actividades SOD y FumC. Estos y otros resultados sugieren que YggE podría tener una potencial participación en la resistencia de *Escherichia coli* a K_2TeO_3 . Esta proteína formaría parte de un sistema encargado de expulsar tóxicos generadores de superóxido, en este caso los producidos durante la exposición a telurito y paraquat. Financiado por Fondecyt 1060022 y Dicyt-USACH.

28. CARACTERIZACIÓN Y MECANISMO DE ACCIÓN DEL PEPTIDO ANTIMICROBIANO MICROCINA 24

(Characterization and mechanism of action of antimicrobial peptide Microcin 24) Saavedra, J.M.¹, Tello, M.^{1,2}, Fernández, K.¹, Corsini, G.¹ Laboratorio de Bacteriología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales¹, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.²

Las microcinas son un grupo de bacteriocinas de bajo peso molecular (inferior a 10 kDa) producidas por bacterias entéricas, que presentan actividad bacteriostática o bacteriolítica sobre especies estrechamente relacionadas. La microcina 24 (Mcc24) es una bacteriocina producida por la cepa *E. coli* 2424. Los determinantes genéticos para su síntesis están contenidos en un fragmento de 5,25 kb que posee 5 genes. Mediante experimentos de RT-PCR determinamos que el gen *mtfS*, que codifica para la Mcc24 se expresa en fase exponencial y estacionaria de crecimiento. La purificación y posterior caracterización mediante espectrometría de masa de la Mcc24, determinó que este péptido antimicrobiano posee una masa molecular de 7274,23 lo cual, no es concordante con la masa teórica (7527,36), deducida a partir de la secuencia del GenBank (U47048). Mediante secuenciación de DNA determinamos que el gen *mtfS* codifica para un péptido de 91 residuos, con una masa de 7293,02, lo cual se correlaciona con los datos experimentales obtenidos. Mediante ensayos colorimétricos en placa determinamos que la Mcc24 posee un efecto bacteriolítico sobre las células sensibles y mediante ensayos de actividad beta-galactosidasa determinamos que Mcc24 se inserta en la membrana interna generando poros en la bacteria. Por otra parte, empleando mutagénesis sobre el sistema de transporte del ferrocromo hidroxamato hemos podido esclarecer parte del sistema involucrado en el reconocimiento del receptor y transporte de la Mcc24 a través de la membrana externa hasta su eventual inserción en la membrana interna. Financiamiento: VRA-UDP CG13.03.25.007.

29. EL COMPLEJO PIRUVATO DESHIDROGENASA DE *Escherichia coli* ES UN BLANCO INTRACELULAR DE TELURITO DE POTASIO (The pyruvate dehydrogenase complex of *Escherichia coli* is an intracellular target of potassium tellurite) **Díaz, W.¹**, Castro, M.¹, Molina, R.¹, Vásquez, C.¹. Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, USACH.¹

El telurito de potasio (K_2TeO_3) es tóxico para la mayoría de las especies bacterianas, especialmente Gram negativas. Se ha descrito en general que en bacterias que presentan mayor resistencia a este tóxico participarían enzimas que pueden reducir telurito (Te^{4+}) a telurito metálico (Te^0). La capacidad de reducir este oxianión de telurito ha sido asociada con actividades secundarias de algunas enzimas como nitrato reductasas y catalasas. En este trabajo se presentan evidencias que el complejo multienzimático piruvato deshidrogenasa (PDH) de *Escherichia coli* presenta actividad reductora de telurito. Experimentos de subclonamiento permitieron determinar que la capacidad de reducir telurito *in vitro* radica exclusivamente en el componente E3 (dihidropolipoamida deshidrogenasa) del complejo PDH. Cuando se comparan con la cepa silvestre, mutantes deficientes en el gen *lpd* (codifica para E3) poseen una menor actividad reductora de telurito, además de una alta sensibilidad a K_2TeO_3 . También se determinó que *E. coli* expuestas a concentraciones subletales de TeO_3^{2-} exhiben menor actividad piruvato deshidrogenasa, sugiriendo que el complejo PDH podría representar un nuevo blanco intracelular del K_2TeO_3 . Financiado por Fondecyt 1060022 y Dicyt-USACH.

31. TRANSPORTADORES DE ARABINOSA: PARTICIPAN EN EL INGRESO DE TELURITO DE POTASIO (K_2TeO_3) A *ESCHERICHIA COLI*? (Arabinose transporters: do they play a role in the uptake of potassium tellurite (K_2TeO_3) in *Escherichia coli*?) **Elías, A.¹**, Vásquez, C.¹. Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.¹

El K_2TeO_3 ejerce sus efectos tóxicos dentro de la célula. Sin embargo, el mecanismo de entrada es aún controversial. Evidencia reciente apunta a que el ingreso de este tóxico estaría relacionado al transporte de moléculas biológicamente importantes como azúcares u otros metabolitos. En *E. coli*, la utilización de arabinosa requiere la expresión del operón *araBAD* (metabólico), *araFGH* y/o *araE* (sistemas de transporte). El transporte se lleva a cabo por dos mecanismos diferentes: un sistema de simporte asociado a protones y un sistema dependiente de energía asociado a proteínas de unión. Resultados preliminares de nuestro laboratorio indican que la presencia de arabinosa en el medio de cultivo aumenta la sensibilidad de *Escherichia coli* a telurito de potasio, sugiriendo que el K_2TeO_3 podría ingresar a través del(los) transportador(es) asociado(s) al ingreso de este azúcar a la célula. Este efecto sería específico para telurito y no para otros metaloides como arsenito. Financiado por Fondecyt 1060022 y Dicyt-USACH.

30. VÍA DE SEÑALIZACIÓN MEDIANTE C-DI-GMP EN BACTERIAS BIOMINERAS (*c*-di-GMP pathway in biominer bacteria) **Castro, M.¹**, Ruiz, L.M.¹, Barriga, A.², _aldos, D.³, _aldo, C.¹, Guiliani, N.¹. Unidad de Comunicación Bacteriana, Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Molecular, Departamento de Biología, Instituto de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile.¹, CEPEDEQ, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.², Center of Bioinformatics and Genome Biology, FCV-MIFAB, Universidad Andrés Bello.³

Las bacterias quimiolitotroficas *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Acidithiobacillus _aldos* están involucradas en la biolixiviación de sulfuros metálicos. Diferentes estudios indican que estas bacterias son capaces de conformar biopelículas, estructuras fundamentales en la biolixiviación. Entonces, la caracterización de los mecanismos moleculares involucrados en la interacción bacteria/mineral y la formación de biopelículas adquiere relevancia para diseñar estrategias biológicas para mejorar la eficiencia de la biolixiviación. El _aldos sensing (QS) y la vía del mensajero secundario diguanilato cíclico (*c*-di-GMP) son reconocidos como los principales mecanismos moleculares de regulación de la formación de biopelículas. No obstante, no hay estudios al respecto en microorganismos biomineros. Por esto, nos hemos propuesto indagar si estos mecanismos moleculares están involucrados en la interacción bacteria/mineral y la posterior formación de biopelículas en bacterias biomineras. Previamente, hemos identificado un sistema de QS tipo AI-1 funcional en la cepa ATCC 23270 de *A. ferrooxidans* (Farah y col., 2005, Valenzuela y col., 2007; Ruiz y col., 2008). Usando herramientas bioinformáticas para analizar las secuencias genómicas de *A. ferrooxidans* ATCC 23270, *A. thiooxidans* ATCC 19377 y *A. _aldos* ATCC 51756, hemos identificado genes que codifican para proteínas putativas involucradas en la vía del *c*-di-GMP en estos microorganismos. Junto con demostrar la transcripción de estos genes en *A. _aldos* y *A. ferrooxidans*, hemos evidenciado la presencia de *c*-di-GMP en este último microorganismo. Estos resultados sugieren la existencia de una vía de señalización mediante *c*-di-GMP funcional en estas bacterias biomineras.

32. OXIDASAS Y CICLASAS DE GIBERELINAS EN EL HONGO FUSARIUM SUBGLUTINANS (Gibberellin oxidases and cyclases from *Fusarium subglutinans*) **González, X.P.^{1,2,3}**, Suazo, C.^{1,2,3}, Acuña, V.^{1,2,3}, Rojas, M.C.^{1,2,3}. Universidad de Chile.¹, Facultad de Ciencias.², Departamento de Química.³

Las giberelinas (Gas) son fitohormonas diterpénicas descubiertas en *Fusarium fujikuroi* patógeno del arroz perteneciente al complejo *Gibberella fujikuroi*. *F. fujikuroi* produce ácido giberélico cuya biosíntesis ha sido caracterizada a nivel de los genes, las enzimas y las reacciones químicas. Las otras especies del complejo contienen genes de Gas sin embargo, excepto en *F. proliferatum*, no se ha investigado la funcionalidad de oxidasas y ciclasas. En este trabajo se investigaron las funciones catalíticas de monooxigenasas de Gas en la especie aislada del maíz, *F. subglutinans*, una especie no productora. Se analizó mediante GC-MS la presencia de Gas y *ent*-kaurenoides en el filtrado o el micelio y mediante la administración de precursores marcados con ^{14}C a los cultivos, se investigaron las reacciones enzimáticas. Las dos cepas investigadas (E0099 y E2192) no producen Gas. Los precursores ^{14}C -GA₁₂ y ^{14}C -GA₄ fueron transformados en varios productos de oxidación en tanto que los sustratos de la GA₁₄ sintetasa mostraron una baja metabolización a productos de la vía lo que sugiere que la monooxigenasa P450-1 sería inactiva o presentaría un bajo nivel de expresión en *F. subglutinans*. La biosíntesis de Gas estaría bloqueada a nivel del ácido *ent*-kaurenico en esta especie a diferencia de *F. proliferatum*.

PARASITOLOGÍA MOLECULAR

33. DISTRIBUCION INTRACELULAR DEL PROTEASOMA 20S DE

Trypanosoma cruzi (Intracellular distribution of the *Trypanosoma cruzi* 20S proteasome.) Osorio, L.¹, Gutiérrez, B.², Muñoz, C.², Mortara, R.³, Sagua, H.², Araya, J.², González, J.². Unidad de Parasitología Molecular, Universidad de Antofagasta, Chile¹, Unidad de Parasitología Molecular, Universidad de Antofagasta, Chile², Departamento de Microbiología, Inmunología y Parasitología, UNIFESP, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP, Brazil³.

La diferenciación de *Trypanosoma cruzi*, de tripomastigotes a amastigotes, es un proceso proteasoma-dependiente e inhibido por lactadistina. En células eucarióticas los proteasomas se encuentran en núcleo y citoplasma, no obstante la distribución intracelular en *T. cruzi* no es conocida. Métodos: Utilizando el anticuerpo monoclonal 7E5, dirigido contra una subunidad alfa de 27 kDa del proteasoma de *T. cruzi*, se estudió mediante inmunoelectromicroscopia y microscopia confocal, la distribución intracelular del proteasoma 20S. Igualmente, el anticuerpo se utilizó para inmunoprecipitar proteasomas y estudiar la actividad enzimática en los distintos estadios del parásito. Finalmente, el cinetoplasto de *T. cruzi* fue aislado mediante gradiente de iodixanol y se realizó un inmunoblot revelado con anticuerpo 7E5. Resultados: Mediante microscopia electrónica y confocal el proteasoma 20S fue identificado en núcleo, citoplasma y en cinetoplasto. La presencia de proteasoma en cinetoplasto fue confirmada mediante un inmunoblot de fracciones purificadas de cinetoplasto y mediante evaluación de la actividad enzimática de inmunoprecipitados de proteasoma utilizando Suc-LLVT-AMC como sustrato. Conclusiones: Evidencias microscópicas y bioquímicas muestran que proteasoma está presente en todos los estadios de *T. cruzi*, distribuyéndose en núcleo, citoplasma y cinetoplasto. Se postula que la presencia de proteasomas en cinetoplasto, no descrita hasta hoy, tendría relación con el remodelamiento del organelo, evento que ocurre durante la diferenciación de tripomastigote a amastigote. Financiamiento: VRA1321; Fundación Andes C13955/17.

34. ESTUDIO DE LA PROLIFERACIÓN DE *Trichomonas vaginalis*

(STUDIES OF *Trichomonas vaginalis* PROLIFERATION) Muñoz, C.¹, Osorio, L.², Sagua, H.², Araya, J.², González, J.². Unidad de Parasitología Molecular, Universidad de Antofagasta, CHILE¹, Unidad de Parasitología Molecular, Universidad de Antofagasta, Chile².

Trichomonas vaginalis es un protozoo flagelado que infecta el tracto urogenital humano, reportándose 170 millones de nuevos casos cada año. En cultivo axénico, la proliferación de *T. vaginalis* depende de pH y temperatura. No obstante, observaciones preliminares de nuestro laboratorio sugieren que el crecimiento depende del número de parásitos presentes en el inóculo inicial. Con el objetivo de identificar factores que afectan el crecimiento de *T. vaginalis* se estudió el crecimiento utilizando inóculos de diferente densidad celular en el rango de 62.000 a 500.000 parásitos/ml. Mediante SDS-PAGE se estudió el secretoma de *T. vaginalis*. Finalmente se estudió el crecimiento del protozoo en presencia de Brefeldina A. El estudio de las curvas de crecimiento, mostró que el parásito es capaz de proliferar cuando los inóculos iniciales fueron de 250.000 y 500.000 parásitos/ml mientras que escaso crecimiento se observó con inóculos menores. El estudio del secretoma de *T. vaginalis* mostró que una banda de aproximadamente 20 kDa se secreta solo a partir del tiempo 0 siendo su intensidad creciente en el tiempo. Finalmente un 59,4% de inhibición en la proliferación se observó cuando *T. vaginalis* fue cultivada en presencia de Brefeldina A. Nuestras observaciones sugieren que el crecimiento de *T. vaginalis* depende del inóculo inicial y probablemente de productos de secreción del parásito. Financiamiento: FUNANDES C13955/17.

VIROLOGÍA

35. ESTUDIO DE LA INICIACIÓN DE LA TRADUCCIÓN DEL mRNA DEL SEGMENTO S DE LOS VIRUS ANDES Y BUNYAMWERA.

(Mechanism of translation initiation of the S mRNA of Andes and Bunyamwera virus) Vera-Otarola, J.¹, López-Lastra, M.¹. Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

Los virus miembros de la familia Bunyviridae poseen un genoma tripartito (S, M y L). El mRNA del segmento S (mRNA S) es utilizado en algunos géneros como templado para la síntesis de dos proteínas virales, N y NSs. Estas proteínas se sintetizan a partir del mRNA S utilizando dos codones de inicio de la traducción diferentes el AUGN y el AUGNSs. El mecanismo molecular responsable de la selección del primer (AUGN) ó segundo (AUGNSs) codón de inicio no ha sido aún dilucidado. Con el objetivo de determinar la estrategia responsable de la selección del codón de inicio en el mRNA S de Hantavirus Andes (ANDV) y Bunyamwera (Bunyavirus) se diseñaron RNA sintéticos compuestos de la región 5' no traducida (5'UTR) de los virus seguido de la región que codifica para el reportero de la luciferasa de luciémaga (FLuc). Los RNAs se evaluaron en ensayos in vitro y ex vivo. Los resultados sugieren que el mecanismo de inicio de la traducción a partir del AUGN del mRNA S de Bunyamwera y ANDV corresponde a un mecanismo cap-dependiente canónico, mientras que la selección del AUGNSs se ajusta a un mecanismo de leaky scanning. Financiamiento: JEAH-IRD. JVO es Becario Mecesp. USACH

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE PLANTAS

36. ANALISIS MOLECULAR DE LA RESPUESTA GRAVITRÓPICA DE *Pinus radiata* D. DON

(Molecular analysis of gravitropic response of *Pinus radiata* D. Don) Ramos, P.¹, Cruz, N.¹, Emhart, V.², Gantz, C.², Herrera, R.¹. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca¹, Forestal Mininco².

En la naturaleza, árboles de la familia de las coníferas desarrollan madera de compresión en respuesta al estímulo gravitropico. Los genes involucrados y los mecanismos moleculares subyacentes a este fenómeno aún se desconocen. En este trabajo se estudió la expresión de genes en respuesta al estímulo gravitropico inducido por inclinación de 45° en plántulas de pino radiata. Como la respuesta de reorientación del tallo se observa alrededor de las 2,5 horas, se realizó una extracción RNA total a los tiempos de 2,5h, 10h, 24h y 30 días de inducido el estímulo de la zona del tallo que responde curvándose y, mediante un corte longitudinal de éste, se extrajo muestra de la mitad superior e inferior. A partir de estos RNAs se generaron bibliotecas supresivas substractivas (SSH) de ESTs, conteniendo un total de 2653 clones con un tamaño de fragmentos entre 300 y 1500 pb, y una redundancia cercana al 40%. Análisis de PCR en tiempo real de algunos genes de transducción de señales hormonales y enzimas involucradas en rutas metabólicas mostraron ser efectivamente expresados diferencialmente. Este trabajo contribuye al entendimiento de la respuesta gravitropica y formación de madera de compresión en *p. radiata*. Financiamiento: Fondecyt 1071026, Ecos-Conicyt C07B01, Conicyt Doctoral PR y NC.

37. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *PrTRAUCO*, UN GEN HOMÓLOGO AL GRUPO TRITHORAX EXPRESADO PREFERENCIALMENTE DURANTE LA EMBRIOGÉNESIS EN

Pinus radiata. (Molecular Characterization of *PrTRAUCO*, a trithorax group homologue gene expressed preferentially during embryogenesis in *Pinus radiata*) **Matte, J.P.**¹, Aquea, F.¹, Carión, P.¹, Gutiérrez, F.¹, Rico, S.¹, Lamprecht, M.², Sánchez, C.², Arce-Johnson, P.¹ Pontificia Universidad Católica de Chile¹, Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia².

En nuestro laboratorio estamos interesados en estudiar genes que se expresan durante las etapas tempranas de la embriogénesis en plantas, usando como modelo la embriogénesis somática en *Pinus radiata*. Mediante la técnica de cDNA-AFLP identificamos un gen homólogo al grupo Trithorax, descrito previamente sólo en animales y levaduras, que se expresa durante el desarrollo embrionario. Este tipo de genes está involucrado en el remodelamiento de cromatina. A partir del fragmento identificado en el análisis de cDNA-AFLP, hemos clonado el gen completo y codifica para una proteína de 426 aminoácidos que presenta en su extremo amino una señal de localización nuclear y en el extremo carboxilo un dominio SPRY de interacción entre proteínas. Utilizando la técnica de QD-PCR sabemos que el gen *PrTRAUCO* tiene más de una copia en el genoma. Mediante real-time PCR determinamos que este gen presenta una alta expresión en tejido embriogénico en comparación con tejidos vegetativos de *Pinus radiata*. El patrón de expresión en embriones zigóticos maduros y en raíces al inicio de su desarrollo fue evaluado por hibridación in situ. Esto demostró que el gen se expresa preferentemente en el polo radicular, en el meristema apical y el meristema lateral del embrión. Finalmente se quiere demostrar que este gen pertenece al grupo Trithorax realizando un análisis funcional complementando levaduras mutantes. En conclusión, en este trabajo se presenta la primera caracterización molecular de un gen tipo Trithorax de coníferas. Núcleo Milenio Genómica Funcional de Plantas (P06-009-F).

39. LA EXPRESIÓN DE *Vitis vinifera* *CONSTANS-LIKE1* (*VvCOL1*), UN HOMÓLOGO DEL GEN *CONSTANS*, ES REGULADA POR EL FOTOPERIODO Y EL DESARROLLO

(Photoperiod and developmental regulation of a *CONSTANS* LIKE gene isolated from *V. vinifera* cv. *Carmeneré*) **Almada, R.D.**¹, Ruiz-Lara, S.¹, González Villanueva, E.¹ Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, 2 Norte N° 685, Talca¹.

La luz influencia el desarrollo de las angiospermas y estas han desarrollado exclusivos y sofisticados sistemas fotosensores y reguladores en respuesta a cambios del medioambiente luminoso. Las proteínas *CONSTANS* y *CONSTANS-LIKE* (*COL*) son constituyentes de estas vías. En *Vitis* spp., el fotoperiodo afecta el crecimiento estacional, la dormancia y fertilidad de yemas, sin embargo, las bases moleculares de estas respuestas son desconocidas. En este trabajo, analizamos el perfil transcripcional de un gen *COL* a través del desarrollo de *V. vinifera* cubriendo importantes eventos del desarrollo como la inducción floral, dormancia y el desarrollo de flor y frutos, y también, bajo diferentes fotoperiodos. Nuestros resultados sugieren que *VvCOL1* tendría un rol durante la inducción y desarrollo floral. Además, en condiciones de día largo y corto, los transcritos de *VvCOL1* ciclaron marcadamente con un periodo de 24 h y con un máximo de expresión al inicio del periodo luminoso. En condiciones de luz constante se observó un comportamiento aritmético en la expresión de *VvCOL1*. Nuestro trabajo constituye el primer intento de disectar molecularmente la vía de fotoperiodo en vides. Agradecimientos. Universidad de Talca; Proyecto Consorcio Biofrutales.

38. EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES ACC OXIDASA Y ACC SINTASA EN *Pinus Radiata* D. DON EN RESPUESTA A PERDIDA DE VERTICALIDAD

(Differential expression of ACC oxidase and synthase in *Pinus radiata* D.DON in response to loss of verticality) **Valenzuela, C.**¹, Ramos, P.¹, Emhart, V.², Ganz, C.², Herrera, R.¹, Lab Fisig. Veg & GenMol, IBVB, UTAIca¹, Forestal Mininco².

Las singularidades y propiedades de la madera de compresión (CW) difieren a las presentes en madera opuesta (OW) como madera normal, con un complejo proceso de formación que involucran varias etapas que estarían moduladas por un control hormonal. El mecanismo de respuesta es desconocido pero investigaciones sugieren el involucramiento de fitohormonas como Etileno. Sin embargo, los patrones de expresión de genes relacionados con la biosíntesis de Etileno no han sido demostrados. Con el fin de validar la presencia de estos genes, plántulas de *Pinus radiata* D Don, fueron sometidas a inclinación de 45° por 2,5h y 10h (tiempos tempranos), 24h y 1 mes (tiempos tardíos), donde se evaluaron los niveles de expresión de distintas isoformas de 1-aminociclopropano-1-carboxilato oxidasa y sintasa (ACC oxidasa y ACC sintasa) por PCR tiempo real. Observándose un nivel de expresión diferencial en tallo, entre OW y CW para los genes TC75059 (*ACO3*) y PtaACS1 (*ACS1*). *ACO3* se reprimió tanto en hoja como raíz, mientras las otras isoformas de ACC oxidasa no presentaron expresión para tallo inferior ni superior. Demostrando que ACC oxidasa y sintasa presentan un patrón de expresión en respuesta a la inclinación. Financiamiento: Proyecto Ecos-Conicyt C07-B01 y Fondecyt 1071026.

40. EXPRESIÓN DE GENES DE EXPANSINAS DURANTE EL CRECIMIENTO Y MADURACIÓN DE FRUTILLA CHILENA

(Expression of expansin genes during growth and ripening of the Chilean strawberry) **Figueroa, C.R.**¹, Dolto, M.C.², Civello, P.M.², Herrera, R.¹, Moya-León, M.A.¹ Laboratorio de Fisiología Vegetal, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca, Chile¹, Instituto Tecnológico de Chascomús, B7130IWA, Chascomús, Argentina².

Las expansinas, proteínas sin actividad enzimática conocida, han sido estudiadas por su relación con el proceso de ablandamiento de frutos por su posible participación en el desensamblaje de la pared celular. Con el fin de evaluar la participación de las expansinas en el ablandamiento de frutilla chilena (*Fragaria chiloensis*), se analizó el nivel de expresión de cinco mRNAs de expansinas descritas en *Fragaria x ananassa* (*FaEXP1*, *FaEXP2*, *FaEXP4*, *FaEXP5*, y *FaEXP6*) durante el desarrollo del fruto, y se comparó con el de *F. x ananassa* cultivar Chandler. Se encontró correlación entre el incremento en los niveles de expresión de mRNA y pérdida de firmeza del fruto para *FaEXP1*, *FaEXP2* y *FaEXP5* en ambas especies. Para el mRNA de *FaEXP5* se observó un nivel de expresión mayor en la especie de ablandamiento más intenso (*F. chiloensis*). En el caso de *FaEXP4* y *FaEXP6*, se observó un patrón de expresión diferencial en ambas especies y sin correlación con el ablandamiento del fruto. Podemos concluir que *FaEXP5*, *FaEXP1* y *FaEXP2* están implicados en el ablandamiento de frutos de *F. chiloensis*. Agradecimientos: CONICYT/SECyT (Programa de Cooperación Internacional), Proyecto PBCT Anillo de Ciencia y Tecnología (ACT-41).

41. GENES PARA TRANSPORTADORES DE BORO DE *Vitis vinifera* Y SU ASOCIACION CON EL FENÓMENOS DE PARTENOCARPIA EN EL CULTIVAR CARMENERE. (Boron transporter genes from *Vitis vinifera* and their association with partenocarpic phenomenon in Carmenere cultivar.)

Pérez, R.¹, Gainza, F.¹, Ruiz-Lara, S.¹, González, E.¹, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹

Vitis vinifera cv Carmenere, comúnmente presenta anomalías en el desarrollo reproductivo (frutos partenocárpicos), que se traducen en bayas semilladas y no semilladas de tamaño diferencial en un mismo racimo. Tal evento ha sido asociado a deficiencia de boro, micronutriente esencial para el desarrollo del tubo polínico, el cual es captado y distribuido mediante transportadores específicos. En *Arabidopsis thaliana* se ha identificado a los transportadores NIP5;1, el cual capta y distribuye boro en el tejido radicular y BOR1, responsable de su movilización hacia el tejido xilemático y posterior transporte al tejido aéreo. Esta investigación está enfocada en la caracterización estructural y funcional de ortólogos de AtBOR1 y AtNIP5;1 en *Vitis vinifera* cv. Carmenere. Genes homólogos han sido identificados en *V. vinifera* cv. Carmenere (VvBOR1 y VvNIP5;1), los que son expresados en tejidos aéreos de la planta incluyendo flores y frutos. El análisis de sus perfiles transcripcionales en bayas semilladas y no semilladas en *V. vinifera* cv. Carmenere, indica que el gen VvBOR1 se encuentra reprimido en bayas no semilladas, indicando que alteraciones del transporte hacia tejidos sink, pueden ser la causa de la deficiencia de boro en tejidos reproductivos a la generación del evento partenocárpico.

42. ANÁLISIS DE PERFILES DE EXPRESIÓN DE cDNAs DIFERENCIALMENTE EXPRESADOS INVOLUCRADOS EN LA VÍA DE SÍNTESIS DE FLAVONOIDES EN FRUTILLA NATIVA, *Fragaria chilensis* L. (DUCH.) (Analysis of expression profiles of differentially expressed cDNAs involved in the flavonoid synthesis pathway in native strawberry, *Fragaria chilensis* L. (Duch.))

Salvatierra, A.¹, Pimentel, P.¹, Moya-León, A.¹, Caligari, P.¹, Herrera, R.¹, Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹

El proceso de desarrollo y maduración de frutos de frutilla nativa, *Fragaria chilensis*, está asociado a un conjunto de cambios, entre ellos, ablandamiento, aroma, sabor y color. En el género *Fragaria*, el color del fruto se origina por la acumulación de antocianinas durante la maduración. La generación de estos compuestos responde a la acción coordinada de una serie de enzimas codificadas por genes estructurales de la vía de biosíntesis de flavonoides. Con motivo de ampliar nuestro conocimiento acerca del proceso de maduración de los frutos de *Fragaria chilensis*, se generaron diversas librerías subtractivas supresivas (librerías SSH) contrastando cuatro estadios de desarrollo desde verde pequeño hasta maduro. Dentro de los cDNAs diferencialmente expresados se encontraron dos relacionados con la producción de compuestos flavonoides: Chalcona sintasa (CHS) y Antocianidina sintasa (ANS). Los análisis de expresión de estos genes revelaron una correlación entre sus niveles de transcritos y la acumulación de antocianinas. Agradecimientos a Proyecto PBCT Anillo ACT-41 por apoyo financiero y Conicyt por beca doctoral a P. Pimentel.

43. UNA SUBUNIDAD HIERRO-AZUFRE DEL COMPLEJO II SE EXPRESA DURANTE LA MADURACION DE LA SEMILLA Y ES REGULADO POR FACTORES DE TRANSCRIPCION QUE CONTROLAN LA EMBRIOGENESIS EN *ARABIDOPSIS THALIANA*. (A complex II iron-sulfur subunit is expressed during seed maturation and is regulated by embryogenesis-related transcription factors in *Arabidopsis thaliana*)

Vasquez, M.¹, Roschztardt, H.¹, Gomez, I.¹, Jordana, X.¹, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.¹

El complejo II mitocondrial o Succinato Deshidrogenasa cataliza la oxidación de succinato a fumarato y la reducción de ubiquinona a ubiquinol. Tres genes, *SDH2-1*, *SDH2-2* y *SDH2-3*, codifican para la subunidad II o hierro-azufre de este complejo en *Arabidopsis thaliana*. Previamente determinamos que *SDH2-1* y *SDH2-2* se expresan en todos los tejidos de la planta adulta, mientras que el transcrito de *SDH2-3* solo es detectado en semilla y su expresión está regulada por factores de transcripción que presentan un dominio B3, como ABI3 y FUSCA3. La embriogénesis en *Arabidopsis* se puede dividir en tres fases denominadas morfogénesis, maduración y desecación, con expresión específica de genes en cada una de ellas. Con el fin de determinar la etapa del desarrollo de la semilla en que comienza a expresarse *SDH2-3*, semillas fueron extraídas en distintas etapas del desarrollo de la silicua y mediante RT-PCR se determinó que el transcrito de *SDH2-3* comienza a acumularse al inicio de la maduración, aumenta durante la desecación y es abundante en semillas secas. Por otra parte, LEC2, otro factor de transcripción con dominio B3, es importante para la expresión de *SDH2-3* durante la fase maduración, pero no en la desecación. En contraste, ABI3 y FUSCA3 si son necesarios para la expresión de *SDH2-3* durante la desecación. Financiado por Fondecyt 1060485 y Milenio P06-009-F (Núcleo Milenio en Genómica Funcional de Plantas).

44. FACTORES DE TRANSCRIPCION bZIP INVOLUCRADOS EN RESPUESTA A ESTRES SALINO EN TOMATE (bZIP transcription factors involved in response to salinity stress in tomato)

Orellana, S.¹, Yañez, M.¹, Bastias, A.¹, Espinoza, A.¹, Ruiz-Lara, S.¹, Casaretto, J.A.¹, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹

La regulación génica es una de las respuestas utilizadas por las plantas para activar mecanismos de tolerancia a estrés abiótico. Algunos de los genes que se activan por estrés son factores de transcripción que participan en puntos claves de vías de transducción de señales. Con el fin de tener mayor conocimiento sobre las respuestas de los cultivos a estrés abiótico como sequía y salinidad, se han identificado dos factores de transcripción bZIP de tomate (*Solanum lycopersicum*), denominados SIAREB1 y SIAREB2, que comparten alta homología con un grupo de factores de transcripción descritos en *Arabidopsis* y arroz (ABI5/AREB/ABF). Su expresión es inducida en respuesta a deshidratación y estrés salino. La expresión relativa de ambos genes fue evaluada mediante qRT-PCR, encontrándose más alta en hojas, flores y raíces que en semillas y frutos maduros. Los niveles de transcritos de SIAREB1 y SIAREB2 fueron evaluados en plantas de tomate de 2 meses de edad sometidas entre 6 horas y 30 días a estrés salino. Aunque dicho tratamiento afectó la expresión de ambos genes, la inducción de SIAREB1 fue mayor en tejido foliar y radicular y a las 6 horas de iniciado el estrés. Para examinar la función de SIAREB1 en la tolerancia a salinidad, se generaron plantas transgénicas con distintos niveles de transcritos de SIAREB1. Líneas sentido y antisentido fueron seleccionadas para comparar su tolerancia cuantificando parámetros fisiológicos como contenido relativo de agua y eficiencia fotosintética. Financiado por Fondecyt 1060843, IFS C-4075.

45. PAPEL DE LA GLUTAREDOXINA GRXS13 EN LA RESPUESTA DE DEFENSA A ESTRÉS OXIDATIVO EN ARABIDOPSIS (Role of glutaredoxin S13 in the defence response to oxidative stress in Arabidopsis) **Laporte, D.¹**, Salinas, P.¹, Blanco, F.¹, Herrera, A.¹, Holuigue, L.¹. Facultad de Biología, depto Genética Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

El ácido salicílico (SA) es una de las señales producidas en respuesta a estrés en Arabidopsis, y juega un papel central en la activación de genes de defensa. Un gen que se activa tempranamente por SA corresponde a AtGrxS13, que codifica para la glutaredoxina (GRX) monotiólica S13. Las GRX son oxidoreductasas que reducen enlaces disulfuro y cisteínas S-glutacionizadas de proteínas. Se ha reportado que GRXs son capaces de modular el estado redox de la célula a través de la directa reducción del DHA y regulando la actividad de proteínas antioxidantes como dehidroascorbato reductasa y peroxiredoxina. Resultados de nuestro grupo indican que AtGrxS13 es también transcripcionalmente inducida por inoculación con la bacteria *Pseudomonas syringae* (Avr Rpm1). Para determinar el papel de esta proteína en la respuesta a estrés, hemos obtenido líneas transgénicas homocigotas que sobre expresan y silencian AtGrxS13 y hemos comenzado a evaluar en estas líneas, los niveles de ROS y GSH en condiciones basales y bajo estrés. Resultados preliminares sugieren que AtGrxS13 podría estar implicada en la respuesta de defensa a estrés.

47. EFECTO DE LA INACTIVACIÓN DE LA PROTEÍNA HIERRO-AZUFRE SDH2-3 EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS EN ARABIDOPSIS THALIANA (Effects of the SDH2-3 iron-sulfur protein inactivation on seed germination in *Arabidopsis thaliana*) **Corvalán, C.¹**, Jordana, X.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹.

La proteína hierro-azufre del complejo II mitocondrial está codificada por tres genes nucleares en *Arabidopsis thaliana*. Análisis de transcritos revelan que *SDH2-1* y *SDH2-2* se expresan en tejido adulto, mientras que *SDH2-3* lo hace sólo en semilla. Este patrón específico de *SDH2-3* sugiere que esta isoforma del complejo II podría tener un rol durante el desarrollo de la semilla y la germinación. Debido a esto, evaluamos los efectos de la inactivación del gen durante aquellas etapas del desarrollo utilizando dos mutantes insercionales *sdh2-3* y una mutante doble *sdh2-1/sdh2-3*. La cinética de germinación fue evaluada en medio basal, medio con distintas concentraciones de sal y luego de tratamientos con peróxido de hidrógeno. En todos los casos, observamos un retraso en la germinación de las mutantes respecto a las semillas silvestres. Además, el retraso es mayor en las dobles mutantes. Luego de la germinación, las plántulas mutantes se desarrollan de manera normal, aunque a los 8 días son más pequeñas que las silvestres. El desarrollo normal puede deberse a la expresión de los otros dos genes, y resultados preliminares indican que los transcritos de *SDH2-1* aumentan en semillas mutantes *sdh2-3*. Finalmente, observamos que embriones mutantes poseen menor actividad del complejo II durante distintas etapas del desarrollo de semillas. Proyecto Milenio P06-009-F y Fondecyt 1060485.

46. CAMBIOS DE LA PARED CELULAR DURANTE LA MADURACION DE DOS ESPECIES DE FRUTILLA (Cell wall changes during ripening of two strawberry species) **Moya-Leon, M.A.¹**, Figueroa, C.¹. Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca, Chile.¹

La frutilla chilena (*Fragaria chiloensis*) exhibe una mayor tasa de ablandamiento al inicio de la maduración que la frutilla comercial (*Fragaria x ananassa* cv. Chandler). El objetivo de este estudio fue comparar cambios de la pared celular durante el desarrollo del fruto, y correlacionarlos con los cambios de firmeza. Cuatro estadios de desarrollo fueron analizados: fruto verde pequeño (VP), verde grande (VG), transición (T) y maduro (M). El contenido total de pared celular fue aislado desde frutos de cada estadio de desarrollo y sometido a extracción química secuencial. Se analizó también el grado de polimerización de polímeros. La mayor tasa de ablandamiento de *F. chiloensis* pareciera estar relacionada con la rápida solubilización de pectinas covalentemente unidas, mientras que en *F. x ananassa* el ablandamiento coincide con una despolimerización de éstas. Adicionalmente, *F. chiloensis* exhibe un mayor contenido de azúcares neutros en el estadio T, probablemente debido a la solubilización de fragmentos pécticos con ramificación de azúcares neutros. El metabolismo de celulosa y hemicelulosa en ambas especies es similar. En conclusión, el modo del desensamblaje de pectina en ambas especies de frutilla podría explicar las diferencias en la tasa de ablandamiento de estos frutos. Agradecimientos a Proyecto PBCT Anillo de Ciencia y Tecnología (ACT-41).

48. INCREMENTO DE LA EXPRESION DE UNA ALCOHOL ACILTRANSFERASA Y DE SU ACTIVIDAD DURANTE LA MADURACION DE FRUTILLA CHILENA. (Fragaria chiloensis L. Duch.) ((Increment of the expression of an Alcohol Acyltransferase and its activity during ripening of the Chilean strawberry fruit. (*Fragaria chiloensis* L. Duch.)) **González, M.¹**, Gaete E., C.¹, Valdenegro, M.¹, Fuentes, L.¹, Herrera, R.¹, Moya-León, M.A.¹. Laboratorio de Fisiología Vegetal y Genética Molecular, IBVB, Universidad de Talca.¹

Los compuestos volátiles se consideran entre los factores de mayor importancia para determinar la calidad de una fruta e influyen en la aceptación final de los consumidores. De ellos, los ésteres cobran gran relevancia ya que tienen el mayor impacto sensorial, y en frutilla (*Fragaria x ananassa*), son los responsables de entregar notas dulces y florales características de su aroma. La formación de estos compuestos está catalizada por la enzima alcohol aciltransferasa (AAT) quien mediante una transacilación de un acil-CoA a un alcohol, genera una variada mezcla de ésteres. Los estudios realizados a la fecha, se han llevado a cabo en *Fragaria x ananassa*, pero es *Fragaria chiloensis*, la madre de esta variedad comercial y especie endémica para nuestro país, la que presenta una excepcional calidad organoléptica que se refleja en la presencia de un buen sabor y gran aroma. En el presente estudio se observó un incremento en ciertos ésteres de impacto sensorial durante la maduración de frutilla chilena (*Fragaria chiloensis*). Ello coincide con un incremento en la actividad de la enzima AAT y en la expresión del gen, analizado mediante PCR en tiempo real. Los resultados indican una participación relevante de AAT en la generación de volátiles durante el transcurso de la maduración en frutilla chilena. Financiamiento: Proyecto Anillo ACT-41.

49. ESTRUCTURA Y PERFIL DE EXPRESIÓN DURANTE CONDICIONES DE ESTRÉS ABIÓTICO DE UN GEN DE *Solanum lycopersicon* PERTENECIENTE A LA FAMILIA ELIP (Structure and pattern expression under abiotic stress conditions of a gen from *Solanum lycopersicon* belonging to the ELIP family.) **Chilian, R.¹**, Espinoza, A.¹, Ruiz-Lara, S.¹, González, E.¹. Instituto Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.¹

Cuando la luz absorbida por las plantas excede la capacidad fotosintética se generan radicales libres capaces de ocasionar un daño oxidativo a proteínas, lípidos y pigmentos fotosintéticos. Este efecto es amplificado por condiciones de estrés ambiental como bajas temperaturas, salinidad o sequía que finalmente inhiben la actividad fotosintética. Bajo estas condiciones las plantas han desarrollado múltiples mecanismos de reparación y protección, siendo la acumulación de las proteínas ELIP uno de ellos. Los genes que codifican para tales proteínas se transcriben de forma transitoria bajo las condiciones señaladas y su función de protección estaría relacionada con la unión de las moléculas de clorofila liberadas durante el estrés, previniendo de este modo la formación de radicales libres y/o con la liberación del exceso de energía en forma de calor. En el presente trabajo se informa sobre el aislamiento y la caracterización a nivel molecular de un cDNA de *Solanum lycopersicon* que codifica para una proteína de una hélice (*ohp*) perteneciente a la familia ELIP. El patrón de expresión de los mRNAs transcritos apoya la función de protección propuesta para estas proteínas. Financiamiento UTALCA.

50. UNA SUBUNIDAD HIERRO-AZUFRE DEL COMPLEJO II MITOCONDRIAL ESPECÍFICA DE SEMILLA ESTÁ CONSERVADA EN ANGIOSPERMAS. (A seed specific complex II iron-sulfur subunit is conserved among angiosperms.) **Carrasco, P.¹**, Clément, P.¹, Roschztardt, H.¹, Montenegro-Montero, A.¹, Jordana, X.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.¹

En *Arabidopsis thaliana* la subunidad hierro-azufre del complejo II mitocondrial está codificada por tres genes nucleares, *SDH2-1*, *SDH2-2* y *SDH2-3*. Este último, presenta propiedades particulares: es distinto estructuralmente, se expresa específicamente durante la maduración de la semilla, su transcrito es abundante en semilla seca y disminuye durante la germinación. Nuestro laboratorio ha identificado genes ortólogos de *SDH2-3* en monocotiledóneas (genes tipo *SDH2-3*), determinándose además que poseen un patrón similar al de *Arabidopsis*. Con el fin de caracterizar la distribución filogenética del gen tipo *SDH2-3* se identificaron secuencias aminoácidas *SDH2* de plantas y se construyó un árbol filogenético no enraizado. En éste agrupan claramente separadas las secuencias tipo *SDH2-3* y las tipo *SDH2-1/2-2*. Además, los promotores de los distintos *SDH2-3* comparten elementos (ABRE/R_Y) que en *Arabidopsis* se sabe son responsables de la expresión específica en semilla. Mediante RT-PCR confirmamos la expresión en semillas del gen tipo *SDH2-3* de *Vitis vinifera*. La amplia distribución de una proteína hierro-azufre específica de semilla en angiospermas sugiere un papel importante de esta proteína. Proyecto Fondecyt regular 1060485 y Núcleo Milenio en Genómica Funcional de Plantas P06-009-F.

EXPRESIÓN GÉNICA

51. INTERACCIONES DIFERENCIALES DE LAS ISOFORMAS HUMANAS DE C/EBP β CON EL COMPLEJO REMODELADOR DE CROMATINA SWI/SNF (Differential interactions of human C/EBP β isoforms with the SWI/SNF chromatin remodeling complex) **Steinberg, X.¹**, Hepp, M.¹, Gutiérrez, J.L.¹. Laboratorio de Regulación Transcripcional, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.¹

C/EBP β es una proteína perteneciente a la familia de factores de transcripción C/EBP. Está codificado por un gen sin intrones y se han descrito 3 isoformas distintas de la proteína: C/EBP β 1, C/EBP β 2 y C/EBP β 3. El aumento en la expresión de la isoforma 2 se ha relacionado con la aparición de cáncer mamario. Se ha observado que estas isoformas se producen a partir de traducción en sitios alternativos del ARNm de C/EBP β , generando diferencias en su contenido de región N-terminal. La proteína de largo completo, C/EBP β 1, posee sólo 23 residuos más que C/EBP β 2 (21 residuos en rata). Se ha postulado que C/EBP β 1 es la única isoforma capaz de interactuar con el complejo remodelador de cromatina ATP-dependiente SWI/SNF. Dado que este complejo está implicado en regulación de expresión génica, esta interacción diferencial podría dar cuenta de las acciones disímiles que sobre la expresión de distintos genes tienen las isoformas 1 y 2. Sin embargo, los estudios que determinaron esta interacción diferencial fueron realizados con las isoformas de gallina y no se ha estudiado este fenómeno en C/EBP β de mamífero. Mediante estudios de GST pull-down, hemos observado que las isoformas 1 y 2 de rata interactúan con el complejo SWI/SNF con afinidad similar. Hemos subclonado y producido las 3 isoformas de C/EBP β de humano como proteínas de fusión con GST, con el objeto de establecer si este patrón se presenta de igual forma en el caso de las isoformas humanas. FONDECYT 1085092.

52. IDENTIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN FUNCIONAL DE POTENCIALES SITIOS DE SUMOILACIÓN EN EL FACTOR TRANSCRIPCIONAL NURR1 (Identification, characterization and functional evaluation of SUMOylation potential sites in the transcription factor Nurrl) **Pereira, L.¹**, Arredondo, C.¹, Andrés, M.E.¹. Núcleo milenio en estrés y adicción. Departamento de Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Biológicas.¹

La sumoilación es una modificación post-traduccional consistente en la unión covalente del péptido SUMO (Small ubiquitin-like modifiers) en lisinas blanco de las proteínas sustrato. Esta modificación ha cobrado una importancia fundamental en la regulación de la actividad transcripcional, así como en la vida media y localización subcelular de numerosos factores de transcripción. Nurrl es un factor de transcripción esencial en el desarrollo de neuronas dopaminérgicas mesencefálicas. Este factor pertenece a la familia de receptores nucleares, pero al subtipo huérfano, es decir, carente de ligando y es constitutivamente activo. En nuestro laboratorio hemos identificado que PIASy, una SUMO-E3 ligasa interactúa con Nurrl, lo que nos lleva a plantear la hipótesis que Nurrl es regulado por SUMOilación. Para buscar potenciales sitios de SUMOilación en Nurrl hemos utilizado dos bases de datos SUMOsp y SUMOplot. Utilizando estas bases identificamos 5 posibles sitios en Nurrl. Hemos realizado las mutaciones sitio-dingidas de cada sitio cambiando la lisina blanco por arginina. Cada mutante ha sido transectado en líneas celulares para evaluar su expresión, ubicación subcelular y actividad transcripcional en un reportero luciferasa comandado por un promotor que contiene elementos de respuesta a Nurrl. Nuestros resultados indican que las potenciales lisinas blanco de SUMOilación son residuos claves de la regulación de la actividad de Nurrl y sugieren que la SUMOilación puede regular a este factor transcripcional. Actualmente estamos evaluando la SUMOilación de Nurrl usando un sistema de transcripción/traducción acoplado a un sistema de SUMOilación *in vitro*.

53. EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN TIPO ACE1 DE CERIPORIOPSIS SUBVERMISPOSA SE UNE A LA REGIÓN PROMOTORA DE GENES LIGNINOLÍTICOS.

(The ACE1-like transcription factor from *Ceriporiopsis subvermispora* binds to the promoter region of ligninolytic genes) **Santibáñez, P.¹**, Álvarez, J.M.¹, Canessa, P.¹, Mancilla, R.¹, Polanco, R.¹, Vicuña, R.¹. Dep. Genética Molecular y Microbiología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile¹.

El basidiomicete *Ceriporiopsis subvermispora* tiene un sistema lignolítico compuesto por las isoenzimas de manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa (Lcs). Mediante qRT-PCR, analizamos el efecto de cobre y plata en los niveles de transcrito de los genes *mnp1*, *mnp2* y *lcs*. Los genes *mnp2* y *lcs* se comportan similarmente, aumentando sus niveles de transcrito con ambos metales. Análisis de sus promotores permitió identificar elementos regulatorios en cis tipo ACE. Este elemento es el sitio de unión para el factor de transcripción ACE1, el que en levadura está involucrado en la activación transcripcional de genes relacionados con la homeostasis de cobre. Utilizando técnicas genómicas clásicas, aislamos y caracterizamos el factor tipo ACE1 (Cs-ACE1), examinando su funcionalidad mediante complementación de levadura. Adicionalmente, analizamos la unión a DNA de Cs-ACE1 mediante ensayos EMSA. Los resultados permiten reportar por primera vez la interacción específica entre un factor tipo ACE1 y un elemento tipo ACE en el promotor de un gen de lacasa y otro de MnP, sugiriendo un posible cross-talk transcripcional entre dos genes ligninolíticos funcionalmente distintos, mediado por cobre y el factor de transcripción identificado. FONDECYT 1070588 e Instituto Milenio (MIFAB).

55. ESTIMULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE COMPLEJOS REMODELADORES DE CROMATINA POR PROTEÍNAS HMG

(Stimulation of chromatin remodeling complexes activity by HMG proteins) **Hepp, M.¹**, Steinberg, X.¹, Gutiérrez, J.L.¹. Laboratorio de Regulación Transcripcional, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Cs. Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.¹

La compactación del ADN en la cromatina influye en los distintos aspectos del metabolismo del ADN. Los nucleosomas son la unidad básica de la cromatina y están conformados por ADN enrollado alrededor de un octámero de histonas. La formación y desensamble de nucleosomas corresponden a un proceso dinámico en el que, entre otros, participan complejos remodeladores de cromatina dependientes de ATP como SWI/SNF. Se ha observado que este complejo posee la capacidad de mover octámeros de histonas a lo largo de la doble hebra de ADN (sliding) y también de transferir octámeros de histonas entre distintos segmentos de ADN (transferencia de histonas). Estudios realizados con una proteína nuclear humana, denominada HMGB1 (High Mobility Group B1), demostraron que ésta interacciona con nucleosomas y facilita el desplazamiento que sobre ellos catalizan complejos remodeladores de cromatina, aunque su efecto sobre la acción catalítica de SWI/SNF no está definido aún. Para estudiar este fenómeno, se generaron proteínas HMG recombinantes (NHP6B, HMO1 -ambas de levadura- y HMGB1) unidas al epítopo His, el cual fue utilizado para su purificación. Como sustrato de la actividad remodeladora se reconstituyó mononucleosomas sobre segmentos de ADN marcados radioactivamente. Se estudió la influencia de la proteína His-HMGB1 sobre la actividad remodeladora del complejo SWI/SNF e ISWI de levadura, observándose un aumento de la actividad de sliding de ambos complejos en presencia de HMGB1. Nuestro trabajo incluirá además el efecto que sobre estos complejos remodeladores poseen NHP6B y HMO1. Patrocinante: FONDECYT 1085092.

54. CLONAMIENTO Y EVALUACION DE REGIONES REGULATORIAS EN EL PROMOTOR DISTAL (P1) Y REGION 5'UTR DEL GEN RUNX1

(Cloning and evaluation of regulative regions in the distal (P1) promoter and 5'UTR of the *RUNX1* gene) **Martínez, M.¹**, Hinojosa, M.¹, Montecino, M.¹, Gutiérrez, S.¹. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

RUNX1 es un factor de transcripción clave en la hematopoyesis y junto a *RUNX2* y *RUNX3* forman la familia de genes *RUNX*. La organización genómica de *RUNX1* muestra que posee 2 promotores (distal o P1 y proximal o P2) de uso alternativo permitiendo la generación de distintas isoformas de *RUNX1*. Estudios para dilucidar el mecanismo regulatorio para la expresión de *RUNX1* se han enfocado principalmente en la identificación y caracterización funcional de regiones regulatorias intrónicas; pero aún no está claro como se regula su expresión. Por consiguiente, nos propusimos evaluar la actividad del promotor P1 del gen *RUNX1*. Primero, realizamos análisis *in silico* del promotor P1 y región 5'UTR; encontramos que existen sitios de unión altamente conservados para proteínas *RUNX* así como motivos para la unión de distintos factores de transcripción hematopoyéticos. A fin de evaluar si el gen *RUNX1* es autorregulado se clonó el promotor P1 y 5'UTR en vectores de expresión que tienen luciferasa como gen reportero y su actividad fue evaluada por ensayos de transfección transiente. Adicionalmente, realizamos estudios de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) usando anticuerpo anti-*RUNX1*. Nuestros resultados demuestran que *RUNX1* es capaz de modular la expresión de un gen reportero, cuando su expresión está controlada por la región P1 y/o 5'UTR. Más aún, la proteína *RUNX1* es reclutada *in vivo* en estas regiones en células mieloides. Nuestros resultados sugieren que *RUNX1* es capaz de autorregular su expresión en células mieloides.

56. BÚSQUEDA DEL SITIO DE TRANSACTIVACIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN PcACE1 DE PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM

(Characterization of the transactivation site of the transcription factor PcACE1 from *Phanerochaete chrysosporium*) **Barham, F.¹**, Cifuentes, A.¹, Canessa, P.¹, Bull, P.¹. Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹

El factor de transcripción ACE1 de levadura regula la expresión de genes blanco captadores de cobre cuando la concentración de Cu^{2+} alcanza niveles de 200 μM . Disponemos del ortólogo de ACE1 del hongo *Phanerochaete chrysosporium* (PcACE1) aislado por complementación en levadura. En esta comunicación estudiamos la localización de la región de transactivación de PcACE. El método utilizado fue a) introducción de sitios BamHI por mutagénesis sitio dirigida en diferentes posiciones en el cDNA de PcACE y también en sus extremos, con el fin de obtener por PCR fragmentos de diferente tamaño de PcACE pero conservando el carboxilo terminal, b) clonamiento de los fragmentos en el vector pMA424 en el sitio único BamHI, el cual está después del sitio de unión a DNA del factor de transcripción GAL4 y ligándolo en fase, c) transformación de levaduras YM335:171 que poseen el promotor de GAL4 antes del cDNA de la β -galactosidasa y d) determinación de la actividad de este gen reportero en el extracto. Hasta el momento tenemos donados 8 fragmentos de PcACE en pMA424. Hemos transformado levaduras con cinco de ellos y hemos determinado su actividad β -galactosidasa. La región de transactivación de PcACE incluiría una parte del carboxilo terminal que comprende 10 cisteínas agrupadas de a dos. Financiado por Proyecto FONDECYT 1085236.

57. IDENTIFICACION DE SECUENCIAS NO CODIFICANTES CONSERVADAS EN EL INTRON 5 DE *RUNX1*

(Identification of conserved non coding sequences in the intron 5 of *RUNX1*) **Rebollo, B.¹**, Stuardo, M.¹, Martínez, M.¹, Hinojosa, M.¹, Vergara, V.¹, Gutiérrez, S.¹. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

RUNX1 codifica para la subunidad alta de *Core Binding Factor* (CBF), un factor de transcripción cuya expresión es esencial para la hematopoyesis embrionaria. Este gen es blanco frecuente de translocaciones cromosómicas como t(8;21) en la cual los quiebres ocurren en su intrón 5 en tres regiones particulares definidas como Regiones de Quiebre Cromosomal (BCR). Este intrón presenta sitios hipersensibles a DNasa I y sitios de corte para TOPO II, además nuestros resultados muestran un alto grado de acetilación de histonas, la unión *in vivo* de *RUNX1* a sus sitios predichos *in silico* en el intrón y que estos sitios son capaces de modular la transcripción de un gen reportero. Las características de la cromatina del intrón 5 se han asociado frecuentemente con la existencia de elementos reguladores de la transcripción, por ello, usando herramientas Bioinformáticas se comparó los genes *RUNX1* de humano, ratón y rata en búsqueda de secuencias conservadas no codificantes (CNS) en el intrón 5 como predictores de elementos reguladores. Los resultados muestran la presencia de once CNS, genómicamente únicas, distribuidas en *clusters* y asociadas a los BCR. Además la CNS más conservada incluye sitios de unión para *RUNX1* de probada unión *in vivo*. Los resultados sugieren que el intrón 5 presenta elementos reguladores cuya funcionalidad ha de ser determinada.

59. LOS COMPUESTOS OXIDANTES HIDROQUINONA Y H₂O₂ AFECTAN DIFERENCIALMENTE LA ULTRAESTRUCTURA Y LA EXPRESIÓN DE LOS GENES LIGNINOLÍTICOS EN EL BADIOMICETE CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA.

(The oxidative compounds hydroquinone and H₂O₂ differentially affect the ultrastructure and the expression of ligninolytic genes in the basidiomycete Ceriporiopsis subvermisporea.) **Mancilla, R.¹**, Amoroso, A.¹, Vicuña, R.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹.

La biodegradación de lignina es un proceso altamente oxidativo en el cual varias oxidasas y peroxidasas juegan un importante rol. Durante este proceso, se generan compuestos aromáticos y especies reactivas de oxígeno que producen estrés oxidativo. En este trabajo, se estudió el efecto de los compuestos oxidantes hidroquinona (HQ) y H₂O₂ sobre el hongo ligninolítico Ceriporiopsis subvermisporea, a nivel estructural y de expresión génica. La microscopía electrónica de transmisión (TEM) reveló la presencia de microvesículas y una extensa degeneración del citoplasma luego del tratamiento con HQ, pero no con H₂O₂. Estudios del estado redox intracelular del hongo mostraron que los tratamientos con HQ causan una disminución transiente de la razón GSH/GSSG y un incremento de los niveles de mRNA de glutatión-S-transferasa (GST). Estos resultados sugieren que la HQ produce estrés oxidativo en este microorganismo. Por otra parte, se observó que la HQ, pero no el H₂O₂, afecta los niveles de transcritos de los genes ligninolíticos manganeso peroxidasa y lacasa. Nosotros proponemos que el mecanismo por el cual el hongo reacciona al estrés oxidativo, contribuye a la selectividad que éste posee por la lignina durante la degradación de la madera. Financiado por: FONDECYT 1030495-1070588 y MIFAB.

58. EXPRESION ESPACIO-TEMPORAL DE SpH PROTEASA EN EMBRIOGENESIS TEMPRANA DE ERIZO DE MAR

(Gene Encoding A Nuclear Cysteine Protease Involved In Male Chromatin Remodeling After Fertilization Is Further Expressed In Specific Territories During Sea Urchin Development) **Sanchez, A.^{1,2}**, Morin, V.³, Puchi, M.¹, Genevieve, A.M.², Imschenetzky, M.⁴. Universidad de Concepción¹, Observatoire Oceanologique de Banyuls, Laboratoire Arago, Universidad de Paris VI², Universidad de Concepción³, Universidad de Concepción⁴.

La remodelación de la cromatina espermática posee un rol crucial en la restauración de la diploidía en eucariontes. En erizos de mar esta proteasa cataliza la degradación de histonas específicas del espermatozoide (SpH) concomitante a su reemplazo por variantes de histonas maternas (CS). Esta proteasa fue puesta en evidencia y caracterizada en nuestro laboratorio, demostrando que esta enzima es responsable de la remodelación del pronúcleo masculino y que persiste hasta los estados larvales de desarrollo. A la fecha, se desconocen las etapas en que se inicia la transcripción del gen codificando para esta proteasa, así como la distribución espacio-temporal de estos transcritos en los diferentes territorios durante la embriogénesis. En este escenario, los objetivos del siguiente trabajo fueron: Determinar la existencia de transcritos que codifiquen para esta proteasa durante la embriogénesis de erizos de mar y especificar el patrón de expresión espacio-temporal. Los resultados obtenidos en huevos sin fecundar y en cigotos nos indicaron que los transcritos que codifican para esta proteasa existen en huevos sin fecundar representando parte de los ARNm enmascarados que constituyen una parte de la dotación de RNA maternos que se expresan durante las etapas de segmentación. Los resultados obtenidos en etapas más tardías de desarrollo indican que esta proteasa es transcrita en etapas post-eclosión y las hibridaciones *in situ* permitieron determinar que la transcripción de esta proteasa está confinada a regiones específicas del embrión, las cuales están definidas espacio-temporalmente.

60. LAS SECUENCIAS DE UNIÓN A *RUNX1* EN REGIONES ACETILADAS DEL INTRÓN 5 SON FUNCIONALES.

(*RUNX1* binding sequences in acetylated regions of intron 5 are functional) **Vergara, V.¹**, Hinojosa, M.¹, Martínez, M.¹, Stuardo, M.¹, Gutiérrez, S.¹. Anillo de investigación de estudios avanzados en señalización celular y regulación génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción¹.

El gen *RUNX1* es esencial para el desarrollo de la hematopoyesis y es blanco frecuente de translocaciones cromosómicas. Una de ellas, la t(8;21) afecta específicamente al intrón 5 de *RUNX1*. Trabajos realizados en nuestro laboratorio han demostrado la existencia de un patrón específico de acetilación a lo largo de este intrón. Con el objeto de identificar factores de transcripción responsables del reclutamiento de acetilasas de histonas se realizó un análisis *in silico* de esta región encontrándose numerosos sitios de unión para proteínas *RUNX* distribuidos a lo largo del intrón. Rara evaluar la funcionalidad *in vitro* de las distintas secuencias de unión a *RUNX* presentes en el intrón 5 de este gen, se realizaron ensayos de retardo en gel para las distintas secuencias de unión las que posteriormente fueron donadas en el vector de expresión eucarionte pGL3 basic y su actividad se evaluó por transección en células HeLa. Nuestros resultados demuestran que todas las secuencias analizadas son capaces de unir *RUNX1 in vitro*, sin embargo solo tres de las 6 regiones activan la expresión del gen reportero luciferasa. Interesantemente, los sitios de unión que exhiben actividad transcripcional corresponden a secuencias que *in vivo* se encuentran en regiones hiperacetiladas del intrón 5 del gen *RUNX1*.

61. SpH-PROTEASA EXISTE EN CÉLULAS CACO-2. (SpH-protease exists in Caco-2 cells.) Morán, V.¹, Dufey, E.¹, Solís, C.¹, Jaña, C.¹, Puchi, M.¹, Imschenetzky, M.¹, Rivas, C.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción¹. Hemos descrito una SpH-proteasa en erizo de mar de 60 kDa en su forma activa que posee precursores inactivos de 90 kDa y 70 kDa en núcleos de óvulos sin fecundar. Esta enzima se localiza en el huso mitótico durante la mitosis y segrega a ambos núcleos durante la división celular. El gen que codifica para SpH-proteasa, exhibe una homología con el gen de catepsina L humanas. Como Objetivo del presente trabajo se investigó la existencia de esta proteasa en células Caco-2. Se utilizaron anticuerpos dirigidos contra la región N-terminal de esta proteasa que confirman la presencia de una molécula de 60 kDa, en distintas etapas del ciclo celular de células Caco-2. Se muestra que en etapa G0, esta proteasa se encuentra en el citoplasma y núcleo de la célula, durante la mitosis se visualiza asociado con el huso mitótico y durante la etapa S se localiza en el núcleo. La incorporación de Bromodesoxiuridina, muestran que la síntesis de ADN disminuye al tratar las células con un inhibidor específico de catepsina L. Paralelamente, células sincronizadas con Nocodazol, disminuyen su capacidad de salir de mitosis después del tratamiento con el inhibidor. Estos resultados demuestran que la variante nuclear de catepsina L descrita en erizos de mar, existe en células Caco-2 y su localización es similar.

62. EL ROL DEL MN2+ EN LA SECRECIÓN DE LA ENZIMA MANGANESO PEROXIDASA DEL BASIDIOMICETE LIGNINOLITICO CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA. (The role of Mn2+ on the Manganese Peroxidase enzyme secretion of the ligninolytic basidiomycete Ceriporiopsis subvermispora) Mancilla, R.¹, Manubens, A.¹, Salas, L.¹, Muñoz, F.¹, Vicuña, R.¹. Departamento de Genética Molecular y Microbiología¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile¹. Ceriporiopsis subvermispora es un hongo basidiomicete de pudrición blanca ampliamente usado en estudios de biopulpaje. Su maquinaria ligninolítica extracelular esta compuesta por dos tipos de glicoproteínas: manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa (Lcs). En este trabajo, estudiamos el efecto del catión Mn2+ en la secreción de la MnP. En cultivos crecidos en ausencia del metal, ensayos de qRT-PCR revelan altos niveles de expresión de transcritos mnp. En los correspondientes micelos experimentos de microscopia electrónica de transmisión muestran altos niveles de enzima en compartimentos intracelulares del hongo. Sin embargo, no es posible detectar la proteína MnP en el medio extracelular por ensayos de actividad enzimática o hibridación tipo Western. Estos resultados sugieren un rol post-transcripcional del Mn2+ debido a que solamente en cultivos tratados con el metal es posible detectar la enzima en el medio extracelular. Experimentos adicionales en presencia del inhibidor de la traducción cicloheximida y Mn2+ muestran que este metal es necesario para secretar la MnP, corroborando que en ausencia del metal, la MnP es retenida en el intracelular y que el Mn2+ podría ser el factor que gatilla su secreción. Financiado por: FONDECYT 1070588 y MIFAB.

63. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS TRANSCRITOS DE *Saccharomyces cerevisiae* SOBRE-EXPRESADOS EN LA FASE ESTACIONARIA TARDÍA DE LA FERMENTACIÓN VINICA (Isolation and identification of novel transcripts of *Saccharomyces cerevisiae* up-regulated in the late stationary phase of wine fermentation) Molinett, S.^{1,2}, Norambuena, T.³, Melo, F.³, Agosin, E.¹. Laboratorio de Biotecnología, departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Escuela de Ingeniería, P. Universidad Católica de Chile¹, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello², Laboratorio de Biotecnología aplicada, departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile³. Durante la fermentación vinica la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es sometida a variables condiciones de estrés. Estudios transcriptómicos, realizados mediante SAGE, evidenciaron que al inicio de la fase estacionaria se induce una reprogramación transcripcional general. Interesantemente, tags de SAGE asignados a regiones sin ORF anotado (NORFs) aumentan su expresión significativamente en esta fase. En este estudio, se re-analizaron los datos de SAGE, obteniéndose aquellos tags NORF más sobre-expresados durante esta fase de la fermentación y que mapean de manera única en el genoma. Se obtuvo RNA total representativo de tres fases -medio exponencial, estacionario temprano y estacionario tardío- de un cultivo batch en condiciones vinicas. Se aislaron transcritos completos de los cuales provinieron dichos tags NORF, los que fueron clonados y secuenciados. Mediante análisis *in silico*, éstos fueron mapeados en el genoma de levadura, confirmando el contexto genético obtenido previamente para cada tag. Distintos algoritmos de predicción de genes indican que estos transcritos corresponderían a RNAs no codificantes. Estas evidencias, junto con su patrón de expresión durante la fermentación vinica, sugieren que estos transcritos podrían corresponder a RNAs no codificante con activos roles regulatorios en *Saccharomyces cerevisiae* durante la fase estacionaria tardía de la fermentación vinica. Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1058688.

64. SÍNTESIS IN VITRO DEL ARN MITOCONDRIAL NO CODIFICANTE HUMANO SENTIDO CON EXTRACTOS MITOCONDRIALES DE CÉLULAS HELA (In vitro synthesis of the human sense non-coding mitochondrial RNA with HeLa cells mitochondrial extract) Araya, M.¹, Burzio, V.¹, Burzio, L.¹. Fundación Ciencia para la vida, MIFAB, Grupo BIOS, Universidad Nacional Andrés Bello¹. Patrocinante Luis B. Hemos caracterizado un ARN mitocondrial no codificante (ARNmtnc) humano, formado por un repetido invertido de 815 nucleótidos (proveniente de la transcripción de la hebra L del gen ARNr 16S mitocondrial) unido covalentemente al extremo 5' del ARNr 16S (transcrito hebra H) tomando una estructura doble hebra de 815pb y un asa de 40nt. Hemos demostrado que este transcrito no corresponde al producto de un pseudogen mitocondrial, pues cultivando células HeLa en presencia de bromuro de etidio no se detecta la expresión del ARNmnc. Además, hemos determinado que este ARN no está codificado en el genoma mitocondrial, pues si esto fuera cierto el fragmento extra de 815nt debería estar ubicado entre las regiones ARN1Val y el extremo 5' del ARNr 16S, amplificándose por PCR un fragmento de 945pb, siendo el único amplicón generado uno de 130pb. En consecuencia, hemos postulado que la síntesis de este ARN requiere de los transcritos de las hebras H y L del ADNmt, donde el transcrito 16S de la hebra L se procesaría y ligaría al extremo 5' del transcrito de la hebra H (ARN ribosomal 16S maduro) mediante un procesamiento post-transcripcional que ocurriría probablemente dentro de la mitocondria. En consecuencia el objetivo de este trabajo considera dilucidar la síntesis de este ARNmnc. Resultados preliminares sugieren que la ligación de ambos fragmentos ocurre en presencia de lisado mitocondrial y que no se requiere la longitud completa de ambos transcritos para dar origen al ARNmnc.

SEÑALIZACIÓN CELULAR, BIOMEDICINA, REGULACIÓN METABÓLICA

65. EXPRESIÓN DE NEUREGULINA-1BETA EN CÉLULAS DE MÚSCULO ESQUELÉTICO NORMAL Y DISTRÓFICO ESTIMULADAS ELECTRICAMENTE. (NRG-1beta expression in electrically stimulated normal and dystrophic skeletal muscle cells) Juretic, N.¹, Jorquera, G.¹, Jaimovich, E.¹, Riveros, N.¹. Centro FONDAF de Estudios Moleculares de la Célula, Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.¹

Neuregulina-1 (NRG-1) es un factor de crecimiento que potencia la miogénesis e induce la expresión de utrofina, proteína estructural y funcionalmente relacionada con la distrofina, en células del músculo esquelético. Investigamos el efecto de la despolarización y en particular la participación de la señal lenta de calcio intracelular, en la expresión de NRG-1beta en células musculares normales y distróficas. Se utilizaron líneas celulares humanas de músculo esquelético normal (RCMH) y distrófico (RCDMD), despolarizadas eléctricamente (400 pulsos, 1ms, 45Hz). La expresión de NRG-1beta se determinó mediante PCR-semicuantitativo, Q-PCR y Western-blot. Observamos que la despolarización produce un aumento en los niveles de NRG-1beta mRNA y un incremento en la expresión de la proteína, en ambos tipos celulares. Se observa una inducción máxima del mRNA (2 veces respecto al control sin estímulo) a las 4 horas. BAPTA-AM, quelante de calcio intracelular y 2-APB y Ly-294002, inhibidores de la señal lenta de calcio, disminuyen los niveles de NRG-1beta mRNA inducidos por despolarización. Demostramos que el nivel basal de NRG-1beta en miotubos distróficos es mayor que en miotubos normales. Nuestros resultados sugieren que la señal lenta de calcio, inducida por despolarización, regula la expresión génica de NRG-1beta tanto en células musculares normales como distróficas. Puesto que los niveles de NRG-1beta se encuentran alterados en miotubos distróficos, la regulación de la expresión del gen podría ser importante en el desarrollo de estrategias terapéuticas. Bicentenario PSD-24. FONDAF-15010006.

67. INDUCCIÓN DE HSP70 EN CÉLULAS DE MÚSCULO ESQUELÉTICO. EFECTO DE DESPOLARIZACIÓN Y TRATAMIENTO CON IL-6 (Hsp70 expression in skeletal muscle cells by depolarization or IL-6 treatment) Jorquera, G.¹, Juretic, N.¹, Jaimovich, E.¹, Riveros, N.¹. Centro FONDAF de Estudios Moleculares de la Célula, Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.¹

Hsp70 contribuye a la homeostasis celular del músculo esquelético durante el estrés fisiológico asociado a la contracción muscular. Estudiamos el efecto de la despolarización, específicamente la participación de señales de calcio y de PKC, así como el efecto de IL-6 en la expresión de Hsp70 en células musculares en cultivo. Se analizó la expresión de Hsp70 en miotubos despolarizados con K⁺ o eléctricamente, en presencia y ausencia de inhibidores de señales de calcio y de PKC y el efecto de IL-6 recombinante sobre los niveles del mRNA de Hsp70. El estudio se realizó mediante RT-PCR, Western-Blotting e inmunofluorescencia. Observamos que la despolarización aumenta significativamente los niveles del mRNA y de la proteína Hsp70, lo que no ocurre al despolarizar los miotubos en presencia de inhibidores de la señal lenta de calcio o inhibidores de PKC. La incubación de los miotubos con IL-6 produce un incremento en los niveles del mRNA de Hsp70. Nuestros resultados sugieren que la señal lenta de calcio, inducida por despolarización, estimula la expresión de Hsp70, mediante activación de PKC, e indican que IL-6 aumenta la expresión del mRNA de Hsp70. Se ha observado una disminución del contenido muscular de Hsp70 en patologías asociadas a estrés oxidativo, como resistencia a la insulina y diabetes tipo 2. Este trabajo aporta al conocimiento de las bases moleculares involucradas en la regulación del gen y podría contribuir al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. FONDAF 15010006.

66. ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE LAS DOS ISOFORMAS DE RIC-8 E INCENP, PROTEÍNA COMPONENTE DEL COMPLEJO CPC (Interaction studies of both RIC-8 isoforms with INCENP, a component of the CPC) Campos, T.¹, Lara, P.¹, Olate, J.¹, Hinrichs, M.V.¹. Laboratorio de Genética Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.¹

RIC-8 (Resistant to Inhibitors of Cholinesterase), es una proteína citosólica que se encuentra altamente conservada en diferentes especies, desde *C. elegans* hasta *H. sapiens*. En organismos superiores se han encontrado dos isoformas, denominadas RIC-8A y RIC-8B, las cuales poseen actividad GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor), es decir la capacidad de estimular el intercambio de GDP por GTP en diversas subunidades Ga. A pesar de que ambas isoformas comparten gran similitud de secuencia, éstas actúan como GEF sobre diferentes proteínas G. Por otra parte, en organismos menos evolucionados, se ha observado una sola forma de RIC-8 que cumpliría ambas funciones. Recientemente en nuestro laboratorio, se clonó RIC-8 desde ovocitos de *Xenopus laevis* (xRIC-8), y se demostró que éste participa en la activación de Gas. Por otro lado, buscando proteínas interactoras de xRIC-8, se encontró que ésta puede asociarse a dos proteínas que forman parte del complejo CPC (Chromosomal Passenger Complex), denominadas INCENP y Dasra. Basado en los antecedentes anteriormente expuestos, nosotros proponemos que una de las dos isoformas de RIC-8 humana, interacciona con el CPC y por lo tanto cumple una función importante durante la mitosis. Por esta razón, se estudió la interacción in vivo entre Ric-8A y Ric-8B con INCENP mediante ensayos de coimmunoprecipitación.

68. IGF-1 ACTIVA A HIF α Y NADPH OXIDASA VÍA PLC Ca²⁺ PKC EN EL CARDIOMIOCITO (IGF-1 activates HIF α and NADPH oxidase through PLC-Ca²⁺-PKC in cardiomyocytes) Bucarey, J.L.¹, Maturana, D.², Muñoz, J.P.², Hidalgo, C.², Lavandero, S.². Universidad de Valparaíso¹, Universidad de Chile.²

Objetivos: IGF-1 es un potente agente prohipertrofico y antiapoptótico en el cardiomiocito. Nuestro objetivo es analizar las vías transduccionales implicadas en la respuesta a IGF-1. Para ello investigamos: a) si IGF-1 activa NADPH oxidasa, una fuente generadora de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el cardiomiocito, b) cuáles son las isoformas de NOX y vías de señalización involucradas y c) si estas ROS activan al factor transcripcional HIF-1 α . Metodología: La expresión de isoformas de NADPH oxidasa y HIF1 α se determinaron por RT-PCR. La producción de ROS se determinó mediante sondas fluorescentes químicas (DCF) y biológicas (Hyper). Para evaluar la participación de NOX2 se usó el péptido gp91ds-tat¹ y un siRNA para NOX4. La activación de HIF 1 α se estudió con un gen reportero HIF1 α -lux y las vías de señalización mediante inhibidores farmacológicos. Resultados: Los cardiomiocitos expresan las isoformas NOX2 y NOX4 de NADPH oxidasa y HIF 1 α . IGF-1 aumentó la producción de ROS entre 0-30 min y siendo inhibida parcialmente por gp91ds-tat o el siRNA para NOX4 y en conjunto en un 80%. La producción de ROS dependiente de IGF-1 fue inhibida completamente por AG538 y genisteína y, parcialmente, por U73112, BIM, Go6976 y BAPTA-AM y no por LY294002. IGF-1 estimuló la activación del gen reportero HIF1 α -lux siendo bloqueada por gp91ds-tat. Conclusiones: IGF-1 estimula la producción de ROS por las isoformas NOX2/4 de NADPH oxidasa y activa HIF-1 α en el cardiomiocito. En estas respuestas participa la vía PLC-Ca²⁺-PKC.

69. IGF-1 REGULA LA AUTOFAGIA Y MUERTE DEL CARDIOMIOCITO INDUCIDA POR PRIVACIÓN DE GLUCOSA (IGF-1 regulates autophagy and death in glucose-deprived cardiac myocytes) **González, L.¹**, Toro, B.¹, Troncoso, R.¹, Lavandero, S.¹, Centro FONDAF CEMC, Facultades Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Medicina, Universidad de Chile¹.

La autofagia es una vía de degradación intracelular para el recambio de proteínas y organelos y de ejecución de muerte en respuesta a estrés nutricional. Su excesiva inducción es un mecanismo para el desarrollo de patologías cardíacas. IGF-1 es un agente cardioprotector que promueve la hipertrofia fisiológica del cardiomiocito e inhibe su apoptosis, sin embargo, se desconoce si también controla la autofagia. Para probar esta hipótesis, cultivos de cardiomiocitos se privaron de glucosa entre 2 y 24 h y se determinó la autofagia a través de la redistribución de la proteína LC3-GFP previa transducción adenoviral del gen así como por el procesamiento de la proteína endógena LC3 por Western blot. Los resultados mostraron que la privación de glucosa activó la autofagia, siendo inhibida por IGF-1. Las disminuciones en los niveles de ATP, PKB y p70-S6K fosforiladas inducidos por privación de glucosa fueron prevenidas por IGF-1. La disminución de la viabilidad celular inducida por estrés nutricional se incrementó al inhibir la autofagia con 3-metiladenina, siendo atenuado por IGF-1. En resumen, la privación de glucosa activa la autofagia y estimula la muerte del cardiomiocito, siendo ambas acciones bloqueadas por IGF-1. BT y TR son becarios doctorado CONICYT, FONDAF 1501006, Becas Apoyo Tesis Doctoral 24071062 y 24080060.

71. ANALISIS MOLECULAR DEL GEN MSH6 EN FAMILIAS CON CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO NO POLIPOSO (HNPCC)

(Molecular screening of the MSH6 gene in families with hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC) **Orellana, P.^{1,2}**, Alvarez, K.^{1,2}, Church, J.³, López-Kostner, F.¹, Carvallo, P.², Laboratorio de Oncología y Genética Molecular, Clínica las Condes¹, Laboratorio de Genética Molecular Humana, Departamento Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile², Cleveland Clinic Foundation, Cleveland Ohio, USA³.

El Cáncer Colorrectal Hereditario No Poliposo (HNPCC) se origina por mutaciones en la línea germinal en los genes MLH1, MSH2 y MSH6 que codifican para enzimas de reparación del DNA. Un estudio previo realizado en nuestro laboratorio en 50 familias chilenas reveló que el 45% de éstas, presenta mutaciones en los genes MLH1 o MSH2. Entre las 26 familias que no presentan mutación en uno de estos genes, se encuentran 13 con casos de cáncer de endometrio y cáncer colorrectal, que es una característica frecuente en aquellas familias que presentan mutación en el gen MSH6. El objetivo de este estudio consiste en analizar la probable presencia de mutaciones en la línea germinal en el gen MSH6, en pacientes de 14 familias que no presentan mutaciones en los genes MLH1 y MSH2. Para esto se amplificaron por PCR los exones del gen MSH6, y se analizaron por la técnica de conformómeros de hebra simple (SSCP) y secuenciación de DNA. Se identificaron alteraciones genéticas en 4 familias, dos cambios intrónicos c.2693-18T>A, c.3439-16C>T y dos cambios silentes, c.1449G>T (V483V), c.3249G>T (P1082P), todos producidos por sustituciones nucleotídicas, que no han sido descritos anteriormente para este tipo de pacientes. Además, otras alteraciones genéticas no patogénicas, descritas como polimorfismos, se han encontrado en otros pacientes. Los cambios nucleotídicos encontrados necesitan estudios posteriores, ya sean funcionales y/o de frecuencia en la población. Financiado por The Cleveland Clinic Foundation.

70. ACTIVIDAD DEL PORO DE TRANSICIÓN DE PERMEABILIDAD MITOCONDRIAL EN MITOCONDRIAS AISLADAS DE CORAZÓN: EFECTO REDOX. (mPTP activity in cardiac mitochondria: redox modulation) **Fernández, C.¹**, Pedrozo, Z.¹, Domenech, R.², Macho, P.², Hidalgo, C.^{1,3}, Donoso, P.^{1,3}, Sánchez, G.^{2,3}, Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹, Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile², Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, Universidad de Chile³.

La transición de la permeabilidad mitocondrial es el aumento brusco de permeabilidad a moléculas < 1,5 kDa, que produce la pérdida del potencial de membrana mitocondrial y el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. El responsable de este aumento de permeabilidad es un poro (mPTP) cuya identidad molecular y mecanismo de apertura no están completamente identificados. Este aumento de permeabilidad desencadena la muerte celular luego de una isquemia prolongada del corazón. El corazón puede precondicionarse, esto es hacerse resistente a una isquemia prolongada, si antes de ella se realizan episodios cortos de taquicardia. Durante el precondicionamiento se producen especies reactivas de oxígeno (ROS), las que son determinantes para el desarrollo de la protección. Para investigar si las ROS generadas durante el precondicionamiento modifican al mPTP, evaluamos su actividad determinando el cambio de volumen de mitocondrias aisladas de corazones de animales controles y precondicionados con taquicardia. Encontramos que en mitocondrias de animales sometidos a taquicardia, el cambio de volumen gatillado por una sobrecarga de calcio ocurre más lentamente que en controles. Además, la incubación de mitocondrias de animales controles con un reductor de grupos SH (DTT) disminuye, mientras que el H₂O₂ aumenta, la velocidad del cambio de volumen mitocondrial gatillado por una sobrecarga de calcio. Estos resultados sugieren que cambios redox de las proteínas que conforman el mPTP regulan su apertura, hecho que podría ser responsable de la protección mediada por taquicardia. Financiado por Fondecyt 1080497, 1080481 y Fondap 5010006.

72. ABERRANTE METILACIÓN DE GENES SUPRESORES DE TUMOR EN PACIENTES CHILENAS CON CÁNCER DE MAMA

(DNA aberrant methylation profiles of tumor suppressor genes in breast cancer Chilean patients) **Guzman, L.M.¹**, **Maturana, M.J.²**, **Castillo, D.²**, **Rodríguez, L.²**, **Cordero, E.²**, **del Campo, G.³**, **Oddó, D.³**, Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso¹, Laboratorio de Inmunología, Instituto de Salud Pública de Chile², Instituto Nacional del Cáncer³.

El cáncer de mama (CM) constituye la segunda causa de muerte en mujeres por cáncer en Chile. El desarrollo carcinogénico se produce por alteraciones moleculares como sobre-expresión de oncogenes y/o inactivación de genes, por mutaciones o silenciamiento génico. El silenciamiento génico por aberrante metilación de la región promotora de genes supresores de tumor (GST), es un mecanismo común en cáncer y se ha descrito este tipo de inactivación en una serie de neoplasias como CM. El propósito de este estudio fue evaluar el estado de metilación de un panel de 7 genes GST, en un grupo de pacientes con CM comparado con un grupo control. Utilizando un método de PCR-metilación sensible observamos metilación positiva para los genes: p16 (90%; p<0.00001), BRCA-1 (100%; p<0.00001), RASSF1-A (87%; p<0.00001) y CDH1 (79%; p<0.0117), en muestras de tejido de pacientes con CM. Los resultados sugieren que estos genes podrían ser utilizados como biomarcadores con valor pronóstico en CM.

73. BUSQUEDA DE MUTACIONES EN LA LINEA GERMINAL EN EL GEN MYH EN PACIENTES CON POLIPOS COLORRECTALES

(Screening of germline mutations in the MYH gene in patients with colorectal polyposis) **De la Fuente, M.^{1,2}**, Alvarez, K.^{1,2}, Church, J.³, López-Kostner, F.¹, Carvallo, P.². Laboratorio de Oncología y Genética Molecular, Clínica las Condes.¹, Laboratorio de Genética Molecular Humana, Departamento de Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile.², Cleveland Clinic Foundation, Cleveland-Ohio, USA.³

Pacientes con múltiples pólipos colorrectales pueden corresponder a las variantes hereditarias Poliposis Adenomatosa Familiar, causada por mutaciones en el gen APC o Poliposis Adenomatosa asociada a MYH, cuyas mutaciones en la línea germinal se encuentran en el gen MYH. La poliposis asociada a MYH puede presentar herencia autosómica dominante o recesiva. Nuestro objetivo es identificar mutaciones en la línea germinal en el gen MYH en pacientes chilenos con múltiples pólipos colorrectales, en los cuales el análisis previo del gen APC no reveló mutación. Para esto se seleccionaron 11 pacientes con múltiples pólipos colorrectales, a los cuales se les realizó el estudio genético del gen MYH. Para esto se amplificaron por PCR los 16 exones de este gen, y se analizaron por la técnica de conformómeros de hebra simple (SSCP) y secuenciación de DNA. Se detectaron cuatro pacientes portadores de alteraciones en el gen MYH. Un paciente presentó un cambio nucleotídico en estado homocigoto, el cual produce un cambio de aminoácido de tirosina por histidina en el codón 114 (Y114H). Los otros tres casos presentan cambios nucleotídicos en un solo alelo (heterocigoto), correspondientes a: c.1059dupC (R354QfsX), c.827G>A (C276Y), c.1145-27C>T. La mutación Y114H ha sido previamente descrita en una familia en Portugal, en la cual se presenta en forma homocigota en dos hermanas. Para determinar el efecto de las variantes aminoacídicas e intrónicas en la función de MYH se requieren posteriores estudios funcionales. Financiado por The Cleveland Clinic Foundation.

75. ANÁLISIS FUNCIONAL DE VARIANTES ALÉLICAS DEL GEN ATM EN LÍNEAS LINFOBLASTOIDES PROVENIENTES DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO.

(Functional analysis of ATM allelic variants on lymphoblastoid cell lines from hereditary breast cancer patients.) **Sánchez, A.¹**, Mejías, C.¹, Faúndez, P.¹, López, M.², Barria, M.^{1,2}, Carvallo, P.¹. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹, Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.²

ATM es una proteína-quinasa activada por quiebres en la doble hebra del DNA, que fosforila a P53, y activa la transcripción de P21 entre otras funciones que llevan al arresto del ciclo celular. Se ha descrito que personas portadoras de mutaciones en el gen ATM poseen una mayor susceptibilidad a desarrollar cáncer de mama. Un estudio de nuestro laboratorio realizado en 80 familias chilenas con cáncer de mama hereditario, reveló la presencia de variantes alélicas del gen ATM asociadas a esta patología. En el presente estudio analizamos la funcionalidad de las variantes alélicas F582L, D1853N, D1853V, S707P, L694L en linfocitos inmortalizados provenientes de los pacientes portadores. Para estudiar la funcionalidad de la proteína ATM, se trataron los linfocitos con bleomicina, un agente radiomimético que induce quiebres de doble hebra del DNA. Se evaluaron los niveles de P53 y p-ser15-P53 mediante Western, la expresión de p21 mediante qRT-PCR, y la síntesis de DNA a través de la incorporación de [3H] timidina en las líneas linfoblastoides. No observamos diferencias significativas en el aumento de la cantidad de P53, de su fosforilación, y de la expresión de p21 entre muestras y controles luego de la inducción del daño al DNA. Las líneas linfoblastoides tratadas, con bleomicina muestran un retardo en la síntesis de DNA con respecto a las no tratadas, como era esperado. Estos resultados indican que las variantes alélicas estudiadas no afectan la actividad proteína-quinasa de la proteína ATM. Fondecyt 1080595.

74. METILACION DEL PROMOTOR DEL GEN ATM Y AUSENCIA DE EXPRESIÓN EN CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO

(Promoter methylation of the ATM gene and absence of expression in hereditary breast cancer) **Smalley, S.V.¹**, Tapia, T.¹, Kohen, P.², Muñoz, A.², Solís, L.³, Corvalán, A.³, Faúndez, P.¹, Devoto, L.², Camus, M.⁴, Alvarez, M.⁴, Carvallo, P.¹. Departamento Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.¹, IDIMI, Universidad de Chile.², Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.³, Centro de Cáncer, Pontificia Universidad Católica de Chile.⁴

El gen ATM ha sido asociado a cáncer de mama hereditario como un gen de baja penetrancia. Pacientes con este cáncer presentan mutaciones y variantes alélicas que derivan en cambios de aminoácido, para los cuales se ha sugerido una alteración en la función de la proteína. Se ha determinado que las personas portadoras de una mutación en este gen tienen un riesgo 5 veces mayor de desarrollar cáncer de mama que la población sin mutación. Por otra parte la expresión del gen ATM se ha visto disminuida a nivel de mRNA y de proteína en cerca del 80% en tumores de mama esporádicos. Adicionalmente la hipermetilación del promotor de ATM ha sido descrita en cáncer de mama esporádico y otros. Para determinar el estado de metilación del promotor de ATM en cáncer de mama hereditario, se extrajo el DNA tumoral de 49 biopsias, se modificó con bisulfito de sodio y se amplificó con primarios específicos por PCR. El estado de metilación se confirmó por secuenciación de DNA. Se determinó que el promotor de ATM se encuentra metilado en un 87,5% de las biopsias. Además se detectó la presencia de la proteína ATM por IHC utilizando un anticuerpo monoclonal. La proteína ATM fue detectada en células epiteliales normales de ductos mamarios, y se encontró ausente en un 96% de los tumores. Estos resultados sugieren que ATM es un supresor de tumor involucrado en el desarrollo de cáncer de mama hereditario. FONDECYT_1080595.

76. RECUPERACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A QUIMIOTERAPIA AL INHIBIR LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS DE MULTIRRESISTENCIA A DROGAS EN CÁNCER PROSTÁTICO

(Recovery of chemotherapy sensitivity by inhibiting multidrug resistance proteins expression in prostatic cancer) **Sanchez, C.¹**, Contreras, H.¹, Mendoza, P.¹, Cabezas, J.², Acevedo, C.², Huidobro, C.², Castellón, E.¹. Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.¹, Servicio de Urología, Hospital Clínico Universidad de Chile.²

La baja respuesta a la quimioterapia que presenta el cáncer prostático avanzado (CAP) se debe, entre otros factores, a la presencia de proteínas de multiresistencia a drogas (MDR), como Gp-P, MRP1 y LRP, que disminuyen la concentración intracelular de quimioterapéuticos. Con el fin de estudiar la posible reversión del fenotipo MDR en CAP, inhibimos la expresión de estas proteínas mediante RNA de interferencia (siRNA) en cultivos primarios de CAP y de la línea PC3. Evaluamos su sensibilidad frente a la exposición a un panel de drogas quimioterapéuticas a través de un ensayo de sobrevivencia (MTT). Tras comprobar una disminución cercana al 60% de la expresión de las 3 proteínas luego de la transfección, se observó que los cultivos de CAP y PC3 transfectados presentaron una disminución del 10% en la sobrevivencia al ser tratados con Mitoxantrona y Docetaxel (drogas de elección para el tratamiento de esta patología), Cisplatino y Metotrexato, respecto de los cultivos sin transfectar. Concluimos que la inhibición de la expresión de las proteínas MDR revierte en parte la resistencia de los cultivos de CAP, incrementando su sensibilidad a la quimioterapia. Esto demuestra el papel de las proteínas MDR en el desarrollo del fenotipo MDR y su posible utilización como blanco terapéutico para la recuperación de la sensibilidad a la quimioterapia en pacientes con CAP hormono-resistente. Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1070827.

77. EFECTO DE CUATRO VARIEDADES DE MACA (LEPIDIUM MEYENII) EN EL CICLO CELULAR DE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER PROSTÁTICO. (Effect on cellular cycle of four varieties of Maca (*Lepidium meyenii*) on prostate cancer cell lines) **Valdes, S.¹**, Sanchez, C.¹, Del Valle, L.², Cabezas, J.³, Acevedo, C.³, Huidobro, C.³, Castellon, E.¹, Contreras, H.¹. Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile¹, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, España², Servicio de Urología, Hospital Clínico Universidad de Chile³.

Introducción. Maca (*Lepidium meyenii*) es una planta que crece en los andes peruanos a la que se ha atribuido la capacidad de disminuir el desarrollo del cáncer prostático. **Objetivo.** Estudiar el efecto de variedades de Maca sobre el ciclo celular y la apoptosis de líneas celulares de cáncer prostático. **Métodos.** Se incubaron cultivos de LNCaP y PC3 con 500 $\mu\text{g/ml}$ de extractos solubles de cuatro variedades de Maca (blanca, morada, negra y roja) durante 48 hrs, y se evaluó su efecto en el ciclo celular mediante citometría de flujo y sobre la expresión de proteínas relacionadas con apoptosis mediante Western blot. **Resultados.** Se observó en PC3 que tanto Maca roja como morada inducen a un arresto en G1. En LNCaP se produce un arresto en G2 por Maca blanca, en cambio, Maca roja induce a un leve arresto tanto en G1 como G2. En células LNCaP tratadas con maca roja se observa una disminución de la expresión de bcl-2, así como, un aumento de p-53. También, se observa un aumento de caspasa 9 en Maca Blanca como Morada. Las 4 variedades de Maca indujeron apoptosis en ambas líneas celulares. Sin embargo, el efecto mayor se observa en Maca roja y negra. **Conclusión.** Existe un efecto proapoptótico y antiproliferativo de Maca sobre líneas celulares de cáncer prostático humano, lo que sugiere su uso como potencial agente terapéutico para esta patología.

79. DETERMINACION DE LOS NIVELES DE EXPRESION Y ACTIVIDAD DEL OXIDO NITRICO SINTASA ENDOTELIAL EN RATAS EXPUESTA A LA HIPOXIA HIPOBARICA INTERMITENTE CRONICA: POSIBLE PARTICIPACION EN LA DETERMINACION A LA INTOLERANCIA A LA EXPOSICION A LA ALTURA (Endothelial Nitric Oxide Synthase expression and activity levels in rats exposed to Chronic Intermittent Hypobaric Hypoxia: A Possible Role in determining of Intolerance to High Altitude) **Pulido, R.¹**, Naveas, N.¹, Siques, P.¹, Brito, J.¹, López, V.¹. Instituto de Estudios de la Salud (UNAP)¹. Patrocinante: Uribe, E.

INTRODUCCION: La Hipoxia Hipobárica Intermitente Crónica (HHIC) produce vasoconstricción, para mejorar el intercambio de O₂. Sin embargo, se observan casos de hipertensión pulmonar en hipoxia crónica. El óxido nítrico (NO) sería factor clave en el desarrollo de esta enfermedad. La regulación de la síntesis de NO, por la concentración de inhibidores de la enzima eNOS, tales como homocisteína, es considerado un factor clave en la regulación de la vasoconstricción, en modelos de hipertensión arterial sistémica y pulmonar. El objetivo de este estudio fue determinar los niveles de expresión/actividad de la eNOS en ratas intolerantes, a la HHIC. **METODOLOGIA:** Se expusieron por un mes ratas Wistar en cámara Hipobárica (428 torr) y se clasificaron en tolerantes e intolerantes (Siques et al., 2006). La expresión de eNOS se determinó mediante RT-PCR y Western Blot desde parénquima de pulmón. La actividad enzimática, fue determinada por método radioactivo. Los niveles de Homocisteína fueron determinados por Elisa. **RESULTADOS:** Análisis de RT-PCR y Western-Blot, no mostraron diferencias significativas entre ratas tolerantes, intolerantes a la HHIC y el control ($p < 0.01$ intol vs. control) La actividad específica de eNOS fue significativamente menor en las ratas intolerantes ($p < 0.05$) y la concentración de Homocisteína plasmática fue significativamente incrementada ($p < 0.05$) **CONCLUSIONES:** Nuestros resultados sugieren que la intolerancia a la HHIC, y probablemente el desarrollo de hipertensión pulmonar de altura, podría ser explicado por una menor producción de NO, debido a una inhibición de la enzima por homocisteína.

78. EFECTO DE ADMA Y HOMOCISTEINA SOBRE LA ACTIVIDAD ARGINASA: POSIBLE PARTICIPACION EN LA DETERMINACION DE LA INTOLERANCIA A LA HIPOXIA HIPOBARICA INTERMITENTE CRONICA (Effect of ADMA and Homocystein on Arginase activity: Possible Role in determining intolerance to Chronic Hypobaric Intermittent Hypoxia) **Naveas, N.¹**, Pulido, R.¹, Siques, P.¹, Brito, J.¹, Carvalho, C.¹, López, V.¹. Instituto de Estudios de la Salud (UNAP)¹. Patrocinante: Vasthi López, E.U.

INTRODUCCION: La Hipoxia produce vasoconstricción pulmonar para mejorar el intercambio de O₂, pudiendo producirse hipertensión pulmonar. En animales genéticamente adaptados (Llama), las respuestas vasoconstrictoras no se observan, sugiriendo participación de mecanismos moleculares, aún no conocidos. En hipertensión pulmonar se conoce que existe una menor concentración plasmática del óxido nítrico (NO), y aumento de metilarginina asimétrica (ADMA) y de homocisteína, inhibidores de la eNOS. Este estudio, analizó el efecto de ADMA y homocisteína sobre la arginasa, y su posible participación en el desarrollo de hipertensión inducida por altura. **METODOLOGIA:** Se expusieron por un mes ratas Wistar en cámara hipobarica (428 torr), clasificándose en tolerantes e intolerantes, (Siques et al., 2006). La actividad arginasa se midió, por método calorimétrico de Archival, en presencia y ausencia de ADM y homocisteína. Los pulmones de llama fueron donados, por el INCA-Putre, Universidad de Chile. **RESULTADOS:** La ADMA, resultó ser pobre inhibidor de la actividad arginasa I y II, en pulmón de ratas control, tolerantes y Llama. Sin embargo, ADMA presentó un fuerte efecto activador sobre la arginasa II, de ratas intolerantes. Por otro lado, la homocisteína activa a ambas isoformas de arginasa en ratas tolerantes e intolerantes. Por el contrario, inhibió a ambas isoformas, para el caso de Llama. **CONCLUSION:** El efecto activador de ADMA y homocisteína sobre la arginasa II, de ratas intolerante a HHIC, sugiere una nueva vía de regulación para el desarrollo de hipertensión pulmonar de altura.

80. AISLAMIENTO DE NEUROFILAMENTOS DESDE LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO DE PACIENTES CON PARAPARESIA ASOCIADA AL HTLV-1 PARA ANALISIS PROTEOMICO (Neurofilament isolation from cerebrospinal fluid of patients with HTLV-I-associated paraparesis for proteomic analysis) **Medina, F.¹**, Alberti, C.¹, Barriga, A.¹, Kettlun, A.M.¹, Collados, L.¹, Cartier, L.², Puente, J.¹, Valenzuela, M.A.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.¹, Departamento de Ciencias Neurológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.²

La Paraparesia Espástica Tropical producida por la infección con HTLV-I es una neuromielopatía degenerativa que afecta al SNC. Se caracteriza por degeneración axonal y consecuente liberación de componentes intracelulares al líquido cefalorraquídeo (LCR). Entre estos, los neurofilamentos, compuestos de subunidades pequeña (Nf-L), mediana y pesada, definen forma y tamaño axonal, participando además en el transporte en axones largos. En enfermedades degenerativas se analizan estas proteínas como una estrategia diagnóstica y para el diseño de tratamientos terapéuticos. La fosforilación de Nf-L en residuos de S del extremo amino-terminal regula su ensamblaje con otras subunidades, por ende, alteraciones en esta regulación dan cuenta de la disfunción axonal. Para estudiar su fosforilación decidimos inmuno-aislarlo del LCR de pacientes para posteriormente analizar fosforilaciones mediante espectrometría de masas (MS). Los ensayos muestran interferencia de albúmina en el análisis de Nf-L, por sus masas moleculares similares y por fosforilaciones en residuos de S, lo que también se reflejó por MS. Se evaluó la eliminación de albúmina del LCR mediante cromatografía de afinidad y las fracciones eluidas presentaron un remanente de 10% de albúmina según SDS/PAGE y "western blot". Sin embargo, el método más convincente para el análisis proteómico, demostrado mediante "western blot" y MS resultó ser inmunoprecipitar Nf-L. Encontrar un aumento de fosforilación en Nfs permitiría asociarlo a activación de quinasas permitiendo así la búsqueda de algún tratamiento terapéutico que reduzca estas actividades hiperfosforilantes, más selectivo que el actual uso de corticoides. **Financiamiento:** Fondecyt 105-0784 y 108-0396.

81. CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE NEUROBLASTOMA HUMANO SH-SY5Y COMO MODELO DE ESTUDIO DE CAMBIOS EN LA FOSFORILACIÓN DE TAU OBSERVADOS EN LA PARAPARESIA ASOCIADA AL VIRUS HTLV-I (Characterization and evaluation of SH-SY5Y human neuroblastoma as a study model of changes in Tau phosphorylation observed in paraparesis-associated with HTLV-I virus) **Maldonado, H.**¹, Pando, M.E.¹, Eugenio, R.², Kettlum, A.M.¹, Collados, I.¹, Cartier, L.², Valenzuela, M.A.¹. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.¹, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.²

La Paraparesia Espástica Tropical (TSP/HAM) afecta crónica y progresivamente al SNC causando degeneración axonal. Tau es una proteína que participa en la polimerización y estabilización de microtúbulos, nuestro grupo demostró hiperfosforilación de ella en el residuo T181 en TSP/HAM. Proponemos que productos virales de HTLV-I, como la proteína Tax, provocan cambios en la fosforilación de Tau que podría asociarse a la degeneración axonal. Células SH SY-5Y diferenciadas fueron tratadas con medio de cultivo de células MT2 (poseen el provirus inserto y secretan Tax), como control se utilizó medio de cultivo de células K562. Se midió largo neurítico, estabilidad de microtúbulos, fosforilación de Tau en T181 y participación de quinasas, esto último por western blot. Las células expuestas a los productos virales presentan retracción neurítica. El contenido de tubulina fosforilada, marcador de microtúbulos inestables, no presenta diferencias entre los grupos con medio de MT2 y control K562. Se encontró hiperfosforilación de T181 respecto al control. El estudio de quinasas asociadas a fosforilación de T181, no mostró cambios en la forma activa de la GSK3 β . Sin embargo, la inhibición de la CDK-5 impidió la hiperfosforilación de tau y bloqueó la retracción neurítica. Esto mismo ocurrió al inhibir la Rock, quinasa involucrada con el cono de crecimiento neurítico. La retracción y hiperfosforilación de Tau T181 se observan en el modelo de estudio propuesto, al igual que en pacientes con TSP/HAM. CDK-5 podría estar involucrada en este proceso. Fondecyt 105-0784, 108 0396.

83. CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DEL VENENO DE LOXOSCELES LAETA (ARAÑA DE LOS RINCONES) OBTENIDO POR ELECTROESTIMULACIÓN (Biochemical characterization of Loxosceles laeta poison obtain by electrostimulation) **Acuña, M.**^{1,2}, Lopez, C.^{1,2}, Riveros, B.^{1,2}, Sagua, H.³, Araya, J.³, Vasquez, A.^{1,2}. Sección de biotecnología e Inmunobiológicos¹, Departamento de Salud Ambiental, Instituto de Salud Pública de Chile², Unidad de Parasitología Molecular, Universidad de Antofagasta³.
Patrocinante: Lopez-Lastra, M.

Loxosceles laeta o Araña de los Rincones provoca severos casos de envenenamiento. Con el objetivo de caracterizar el veneno desde especies presentes en Chile, en nuestro laboratorio, se ha desarrollado un modelo para la obtención de veneno por electroestimulación (veneno electroestimulado) de ejemplares arácnidos vivos. Se caracterizaron proteínas constituyentes del veneno electroestimulado, su actividad de producir demonecrosis y letalidad en modelo animal. Los resultados muestran que el veneno electroestimulado se compone principalmente de proteínas de entre 30 a 35 kDa. Con este veneno se realizaron ensayos de actividad demonecrotica, observando que el veneno obtenido desde arañas hembras produjo una lesión necrótica a las pocas horas, mientras que el veneno de arañas machos no produjo lesión necrótica. Además, se determinó su letalidad, calculando la Dosis Letal 50 (DL50) en 1, 12 mg/K, mayor a la que presenta el veneno obtenido de glándula macerada, que es el método de extracción más usado. Mediante western blot realizado con un suero policlonal anti-veneno, se reconocieron los componentes proteicos presentes en el veneno electroestimulado. Al realizar estudios de actividad esfingomielinasa con este veneno, se ha determinado que presenta una fuerte actividad enzimática. Estos resultados entregan una nueva metodología de obtención de veneno biológicamente activo, que puede ser usado en la formulación de antídotos contra el veneno de *Loxosceles laeta*. FONDEF DO411247.

82. INFECCIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS HUMANAS (DCS) POR HANTAVIRUS ANDES: EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE CITOQUINAS Y METALOPROTEASAS. (ANDES Hantavirus infection of human dendritic (DCs): effect on the production of cytokines and matrix metalloproteases.) Marsac, D.¹, **García, S.**¹, Pino, K.¹, Gonzalez, M.², Ebensperger, R.², Carrión, F.³, Kalergis, A.⁴, López-Lastra, M.¹, Veas, F.⁵. Lab. Virología Molecular, Facultad de Medicina, PUC¹, Lab. Farmacología, Facultad de Química, PUC², Lab. Inmunología, Facultad de Medicina, U de los Andes³, Lab. Inmunogenética, Fac. Ciencias Biológicas, PUC⁴, IRD/UM1, University Montpellier⁵.

Ante una infección viral el hospedero exhibe una variedad de defensas. Sin embargo, hay casos en los cuales la exacerbación del sistema de defensas antiviral es responsable directa de la patología asociada a la infección. Con el fin de establecer si el Síndrome Cardiopulmonar por Hantavirus (HCPS) patología asociada a la infección por Hantavirus Andes (ANDV) es, en parte, consecuencia de una respuesta no controlada del sistema inmune contra el patógeno, estamos estudiando el efecto que ejerce la infección viral sobre las características morfológicas y funcionales de células asociadas a la respuesta inmune como son las células dendríticas (DCs) y linfocitos T. Nuestra hipótesis de trabajo postula que las DCs participan en la patogenia del HCPS a través de un incremento de la producción de citoquinas y de metaloproteasas (MMPs) conduciendo a un aumento de la permeabilidad vascular. Nuestros resultados demuestran que ANDV es capaz de infectar DCs, induciendo un aumento de marcadores de maduración efecto que se correlaciona con la disminución de la fagocitosis por las DCs infectadas. Más aún, se observó que posterior al contacto con el virus las DCs incrementan la producción de MMP-9 y de TNF- α . En linfocitos T, se observó que la infección por ANDV induce una activación policlonal de los CD4+ y CD8+. En resumen nuestros resultados sugieren que la infección por ANDV es capaz de modificar la función de las células asociadas al sistema inmune. Proyecto financiado por NMI, JEAI-IRD, FONDECYT 3085029.

BIOTECNOLOGÍA

84. OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE N DE VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL EN ESCHERICHIA COLI UTILIZANDO LACTOSA COMO INDUCTOR.

(Optimization of production of recombinant protein N respiratory syncytial virus in *Escherichia coli* using lactose as inducer)
Espiñeira, I.¹, Riveros, B.¹, Papic, L.², Vasquez, A.¹. Sección de Biotecnología e Inmunobiológicos, Departamento de Salud Ambiental, Instituto de Salud Pública¹, Universidad Tecnológica de Chile².
Patrocinante: Lopez-Lastra, M.

La producción de proteínas recombinantes representa un desafío en el desarrollo del proceso fermentativo. Como *E. coli* naturalmente no secreta grandes cantidades de proteína, las condiciones de cultivo deben ser estudiadas para optimizar la producción. La concentración de inductor, la fuente de carbono y la temperatura de inducción, afectan directamente la producción de proteínas recombinantes. El IPTG induce al promotor lac y es ampliamente utilizado en la investigación primaria. Sin embargo, su toxicidad y alto costo lo hacen inconveniente en producciones a escala, siendo reemplazado por lactosa. La glucosa es utilizada como fuente de carbono, sin embargo el acetato es un subproducto de su metabolismo que afecta la productividad de la fermentación inhibiendo el crecimiento bacteriano y biosíntesis de proteína recombinante. La lenta tasa de transporte del glicerol dentro de la célula, reduce el flujo de carbono en la glicólisis, disminuyendo la formación de acetato. Temperaturas de inducción bajo 30° C reduce la síntesis de proteínas extrañas, aumenta la solubilidad y estabilidad de la proteína de interés y se reduce la degradación proteolítica. En este trabajo se optimizó la producción de proteína recombinante N del virus respiratorio sincicial, con un diseño de superficie de respuesta Box-Behnken con tres factores; temperatura de inducción, concentración de glicerol como fuente de carbono y concentración de lactosa como inductor. Se realizaron 16 experimentos, obteniendo como condiciones óptimas; 17°C, una concentración de glicerol de 2 g/l y una inducción con 4 g/l de lactosa.

85. EXPRESIÓN DE UN GEN DE QUITINASA EN *E. COLI* Y SU EFECTO SOBRE EL HONGO FITOPATÓGENO *Botrytis cinerea* Y *Alternaria alternata*

(Expression of a gene of chitinases on *E. coli* and its effect on plant pathogenic fungi *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata*)
Niedmann, L.¹, Cordero, C.¹, Verdugo, I.¹, Sandoval, C.², Prieto, H.³, Ruiz, S.⁴, Meza-Basso, L.⁴. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca¹, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca², INIA, La Platina³, Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca⁴

La quitina (N-acetil-D-glucosa-2-amina) es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa. Se encuentra en organismos tales como: hongos, insectos, nematodos, crustáceos y moluscos, principalmente. La participación de la quitina en la constitución de la pared celular varía de acuerdo al organismo. Las quitinasas son capaces de hidrolizar los enlaces β -(1,4) que unen a las unidades de N-acetilglucosamina presentes en la quitina. Estas enzimas pertenecen a las proteínas antifúngicas llamadas PR, específicamente a las denominadas PR-3. Un gen que codifica para una quitinasa, aislado desde *Trichoderma*, fue clonado en un vector para su expresión en *E. coli*. La proteína recombinante fue evaluada in vitro a través de su acción contra el hongo fitopatogénico *Botrytis cinerea* y *Alternaria alternata*. Los resultados indicarían una significativa reducción de la velocidad de crecimiento de ambos hongos. En este momento se está en la evaluación de plantas de tabaco transgénicas sobre estos mismos patógenos.

INDICE GENERAL

..... PAG

Programa

Conferencias

Simposios

Incorporaciones

C. Libres orales

C. Libres orales

C. Libres paneles

Autores

| | | | | | |
|----------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------|--------------------|
| Locker N, J.L. | 9, 24 | Burgos Arias, F. | 47 | De la Fuente, M. | 15, 39, 62 |
| López-Lastra, M. | 7, 9, 10, 24, 32, 35, 52 | Burzio, V. | 14, 39 | Del Valle, L. | 63 |
| Martínez, M. | 57, 58 | Burzio, L. | 14, 15, 39, 40, 59 | Delgado, M.G. | 49 |
| Acevedo, C. | 62, 63 | Burzio, V. | 14, 15, 39, 40, 59 | Devos, D. | 18, 27 |
| Acevedo, M.L. | 11, 36 | Bustos, P. | 45 | Devoto, L. | 12, 38, 62 |
| Acuña, H. | 16, 42 | Cabezas, J. | 62, 63 | Domenech, R. | 61 |
| Acuña, L. | 50 | Cabrera, R. | 45, 47 | Dominguez, M. | 6, 31 |
| Acuña, M. | 64 | Calderón, I. | 50 | Donoso, P. | 8, 34, 61 |
| Acuña, V. | 51 | Caligan, P. | 54 | Dormoy-Raclet, V. | 7, 32 |
| Agosin, E. | 59 | Callegari, E. | 10, 35 | Dotto, M.C. | 53 |
| Alberti, C. | 63 | Campos, T. | 60 | Dreyer, I. | 10, 35, 47 |
| Alberti, C. | 15, 40 | Camus, M. | 12, 38, 62 | Dufey, E. | 59 |
| Allende, J.E. | 8, 34, 46 | Canessa, P. | 12, 38, 57 | Díaz, W. | 6, 31, 51 |
| Almada, R.D. | 53 | Caniuguir, A. | 11, 36 | Díaz-Elizondo, J. | 8, 33 |
| Alvarez, C. | 15, 39 | Cardemil, E. | 44, 48 | Ebenspenger, R. | 64 |
| Álvarez, J.M. | 57 | Carrasco, P. | 56 | Eisner, V. | 8, 34 |
| Alvarez, K. | 15, 39, 61, 62 | Carreño, L.J. | 15, 40 | Elías, A. | 50, 51 |
| Alvarez, M. | 12, 15, 38, 39, 62 | Carrión, F. | 64 | Emhart, V. | 53 |
| Alzate, J. | 10, 35 | Cartier, L. | 15, 40, 63, 64 | Emhart, V. | 52 |
| Amoroso, A. | 58 | Carvajal, N. | 45 | Escudero, C. | 15, 40 |
| Andrade, C. | 44 | Carvalho, C. | 63 | Espinoza, A. | 54, 56 |
| Andrés, M.E. | 11, 37, 56 | Carvalho, P. | 12, 15, 38, 39, 61, 62 | Espiñeira, I. | 65 |
| Aquea, F. | 11, 16, 37, 41, 53 | Casaretto, J.A. | 54 | Estrada, M. | 13, 25 |
| Araujo, W. | 16, 42 | Castellanos, J. | 18, 27 | Eugenio, R. | 64 |
| Araya, J. | 52, 64 | Castellon, E. | 62, 63 | Eyzaguirre, J. | 10, 12, 35, 38, 44 |
| Araya, M. | 59 | Castillo, D. | 61 | Faundez, P. | 12, 38, 62 |
| Arce-Johnson, P. | 11, 16, 17, 19, 29, 37, 41, 42, 53 | Castro, F. | 12, 38 | Faúndez, P. | 62 |
| Armijo, G. | 17, 18, 21, 42 | Castro, M. | 6, 31, 50, 51 | Fernandez, J.M. | 21 |
| Arredondo, C. | 11, 37, 56 | Castro, V. | 45 | Femie, A. | 16, 42 |
| Aspee, A. | 6, 31 | Cañon, P. | 16, 41 | Fernández, C. | 8, 34, 61 |
| Babul, J. | 10, 36, 45 | Cañón, P. | 53 | Fernández, E. | 12, 21 |
| Baez, M. | 10, 36, 45 | Chait, B. | 18, 27 | Fernández, K. | 50 |
| Banderas, A. | 7, 32 | Chavatte, L. | 9, 24 | Ferrada, E. | 18, 27 |
| Barham, F. | 57 | Chilian, R. | 56 | Ferrer, A. | 50 |
| Barriga, A. | 51, 63 | Chipot, C. | 10, 35, 48 | Figueroa, C.R. | 53 |
| Barría, M.I. | 9, 24, 62 | Church, J. | 15, 39, 61, 62 | Flores, M. | 6, 31 |
| Bastias, A. | 54 | Chávez, F.P. | 49, 50 | Franke, J. | 18, 27 |
| Bello, H. | 6, 31 | Cifuentes, A. | 57 | Fuentealba, P. | 45 |
| Bertin Benavides, A. | 12, 38 | Cifuentes, M. | 45 | Fuentes, D. | 16, 42 |
| Bisquertt, A. | 16, 41 | Cifuentes-Huerta, J.J. | 11, 36 | Fuentes, L. | 16, 41, 55 |
| Black, G. | 10, 35 | Civello, P.M. | 53 | Fuenzalida, N. | 11, 37 |
| Blanco, F. | 21 | Clément, P. | 56 | Gabus-Darlax, C. | 9, 21 |
| Blanco, F. | 11, 18, 97, 55 | Collados, L. | 15, 40, 63, 64 | Gaete E., C. | 55 |
| Boccardo, E. | 15, 40 | Collao, B. | 6, 31 | Gaete-Eastman, C. | 47 |
| Brito, J. | 63 | Contreras, H. | 62, 63 | Gainza, F. | 16, 41, 54 |
| Bucarey, J.L. | 60 | Contreras-Ferrat, A. | 7, 33 | Gallouzi, I. | 7, 32 |
| Budini, M. | 8, 34, 46 | Cordero, C. | 65 | Galván, A. | 12, 21 |
| Bueno, S.M. | 15, 40 | Cordero, E. | 61 | Gantz, C. | 52, 53 |
| Bull, P. | 57 | Corsini, G. | 50 | García, S. | 64 |
| Bunster, M. | 46 | Corvalán, A. | 12, 38, 62 | García, D. | 45 |
| | | Corvalán, A. | 15, 39 | García, M.d.I.A. | 45 |
| | | Corvalán, C. | 55 | García, P. | 6, 31 |
| | | Cruz, N. | 52 | Geneviere, A.M. | 58 |
| | | Cruzat, F. | 11, 37 | Gil, F. | 49 |
| | | Cuervo, A.M. | 8, 33 | Gomez, I. | 54 |
| | | Cárdenas | 47 | Gonzalez, A. | 9, 24 |
| | | Inostroza, P. | | Gonzalez, D. | 48 |
| | | Darlax, J. | 9, 21 | Gonzalez, M. | 64 |
| | | Dauelsberg, P. | 19, 29 | Gonzalez, W. | 49 |
| | | De Ferran | 47 | | |
| | | Valentini, G. | | | |

| | | | | | |
|-------------------------|------------------------|-------------------|----------------------------|------------------------|--------------------|
| Gonzalez-Nilo, F. | 48, 49 | Jaimovich, E. | 7, 33, 60 | Martinez-Oyanedel, J. | 11, 36, 46 |
| González, M. | 8, 34, 55 | Jaña, C. | 59 | Martínez, M. | 57, 58 |
| González, P.A. | 15, 40 | Jedlicki, A. | 8, 34, 46 | Martínez, P. | 18, 27 |
| González Villanueva, E. | 53 | Jerez, C.A. | 49, 50 | Martínez-Oyanedel, J. | 47 |
| González, A. | 44 | Jerez, C. | 49, 50 | Mascayano, C. | 48 |
| González, E. | 16, 41, 54, 56 | Jordana, X. | 16, 19, 29, 42, 54, 55, 56 | Matte, J.P. | 53 |
| González, F. | 47 | Jorquera, G. | 60 | Maturana, D. | 60 |
| González, G. | 6, 31 | Juretic, N. | 60 | Maturana, M.J. | 61 |
| González, J. | 52 | Kalergis, A. | 15, 40, 64 | Matus, J.T. | 19, 29 |
| González, L. | 61 | Katz, A. | 6, 31 | Mauriaca, C. | 49 |
| González, M. | 8, 34, 55 | Kettlun, A.M. | 15, 40, 63 | Medina, C. | 17, 42 |
| González, W. | 10, 35, 47 | Klagges, C. | 12, 38 | Medina, F. | 63 |
| González, X.P. | 51 | Klip, A. | 7, 33 | Mejías, C. | 62 |
| González-Ballester, D. | 12, 21 | Kohen, P. | 12, 38, 62 | Mella, C. | 45 |
| González-Nilo, D. | 48, 49 | Lagos, C.F. | 10, 35 | Melo, F. | 17, 27, 59 |
| González-Nilo, F. | 10, 35 | Lamprecht, M. | 53 | Mendoza, P. | 62 |
| Greenberg, E.P. | 14, 26 | Landerer, E. | 14, 39 | Merabachvili, G. | 18, 21 |
| Guiliani, N. | 7, 13, 26, 32, 51 | Laporte, D. | 18, 21, 55 | Merino, F. | 10, 36 |
| Guixé, V. | 11, 36, 46, 47 | Lara, P. | 60 | Meza, C. | 46 |
| Gutierrez, J.I. | 6, 31 | Larrondo, L. | 12, 38 | Meza-Basso, L. | 65 |
| Gutierrez, S. | 58 | Latome, R. | 49 | Michea, L. | 8, 33 |
| Gutiérrez, B. | 52 | Lavandero, S. | 8, 33 | Molina, R. | 6, 31, 51 |
| Gutiérrez, F. | 53 | Lavandero, S. | 7, 8, 33, 34, 60, 61 | Molinett, S. | 59 |
| Gutiérrez, J.L. | 56, 57 | Leiva, D. | 17, 42 | Monasterio, O. | 9, 24 |
| Gutiérrez, S. | 57, 58 | Leiva, E.D. | 15, 40 | Montecino, M. | 11, 13, 25, 37, 57 |
| Guzman, L.M. | 61 | Leiva-Ampuero, A. | 19, 29 | Montenegro-Montero, A. | 56 |
| Gómez, I. | 16, 42 | León, G. | 19, 29 | Morales, C. | 8, 34 |
| Hammes, S. | 13, 25 | León, L. | 17, 42 | Morales, S. | 10, 35, 47 |
| Henriquez, B. | 11, 37 | León, O. | 11, 36 | Morales-Quintana, L. | 47 |
| Henriquez, I. | 15, 39 | León, U. | 9, 24 | Morin, V. | 58 |
| Henriquez, J. | 48 | Llamas, A. | 12, 21 | Mortara, R. | 52 |
| Hepp, M. | 57 | Lobos, M. | 45 | Morin, V. | 59 |
| Hepp, M. | 56 | Lopez, C. | 64 | Moya-Leon, M.A. | 55 |
| Hemera, R. | 55 | Lopez, X. | 48 | Moya-León, A. | 54 |
| Herrera, A. | 11, 18, 21, 37, 55 | López-Lastra, M. | 7, 32 | Moya-León, M. | 16, 41, 47, 53, 55 |
| Herrera, R. | 16, 41, 47, 52, 53, 54 | Loreto, H. | 42 | Munroe, D. | 15, 39 |
| Hidalgo, C. | 60, 61 | López, C. | 14, 39 | Muñoz, A. | 12, 38, 62 |
| Higuera, J.J. | 12, 21 | López, M. | 62 | Muñoz, C. | 52 |
| Hinojosa, M. | 57, 58 | López, V. | 63 | Muñoz, F. | 59 |
| Hinrichs, M.V. | 8, 12, 25, 33, 60 | López-Kostner, F. | 15, 39, 61, 62 | Muñoz, J.P. | 60 |
| Holmes, D. | 7, 18, 27, 32 | López-Lastra, M. | 64 | Muñoz, R. | 45 |
| Holuigüe, L. | 11, 17, 18, 21, 37, 55 | López-Lastra, M. | 7, 9, 10, 24, 32, 35, 52 | Naranjo, D. | 49 |
| Huenchunir, P. | 10, 35 | Macho, P. | 61 | Navarrete, F. | 12, 38 |
| Huidobro, C. | 62, 63 | Maldonado, H. | 15, 40, 64 | Navarrete, M. | 10, 35, 44 |
| Huidobro-Toro, J.P. | 7, 32 | Mancilla, R. | 57, 58, 59 | Navarro, C. | 10, 35, 48 |
| Hurtado, C. | 15, 39 | Manubens, A. | 59 | Navarro, M. | 50 |
| Ibba, M. | 6, 31 | Marquez, V. | 49 | Naveas, N. | 63 |
| Imschenetzky, M. | 58, 59 | Marsac, D. | 9, 24, 64 | Niedmann, L. | 65 |
| Jabalquinto, A. | 44 | Martínez, F. | 45 | Niemeyer, M.I. | 10, 35 |
| Jacob, G. | 8, 34 | Martínez, S. | 13, 25 | Norambuena, T. | 18, 27, 59 |

| | | | | | |
|----------------|---------------------------|-------------------|------------------------|-------------------------|--------------------|
| Nunes-Nesi, A. | 16, 42 | Riedel, C.A. | 15, 40 | Suazo, C. | 51 |
| Nuñez, G. | 48 | Rivas, A. | 7, 14, 32, 39 | Sánchez, A. | 62 |
| Oddó, D. | 61 | Rivas, C. | 59 | Sánchez, C. | 53 |
| Olate, F. | 46 | Rivas-Pardo, J.A. | 11, 36 | Sánchez, G. | 8, 34, 61 |
| Olate, J. | 8, 11, 13, 25, 33, 37, 60 | Rivera, G. | 18, 27 | Tapia, G. | 16, 42 |
| Olavarría, K. | 45 | Riveros, B. | 64, 65 | Tapia, J. | 17, 42 |
| Olea-Azar, C. | 8, 33 | Riveros, N. | 60 | Tapia, K. | 7, 32 |
| Opazo, A. | 6, 31 | Rodríguez, A. | 8, 16, 33, 41 | Tapia, R. | 16, 41 |
| Orellana, A. | 16, 41 | Rodríguez, L. | 12, 38 | Tapia, T. | 12, 38, 62 |
| Orellana, M.S. | 45 | Rodríguez, F. | 7, 32 | Tejada-Jiménez, M. | 12, 21 |
| Orellana, O. | 6, 31 | Rodríguez, L. | 61 | Tello, M. | 50 |
| Orellana, P. | 15, 39, 61 | Rojas, M.C. | 51 | Timmermann, T. | 19, 29 |
| Orellana, S. | 54 | Rojo, P. | 22 | Toro, B. | 8, 33, 61 |
| Osorio, L. | 52 | Rosa, L. | 44 | Troncoso, R. | 8, 33, 61 |
| Ossandón, F. | 18, 27 | Roschztardt, H. | 54, 56 | Uribe, E. | 45, 63 |
| Oyarzo, M. | 15, 39 | Rout, M. | 18, 27 | Urrutia B. H. | 14, 26 |
| Pacheco, N. | 49 | Rozenblum, E. | 15, 39 | Valdenegro, M. | 16, 41, 55 |
| Pando, M.E. | 15, 40 | Ruiz, L.M. | 51 | Valdes, S. | 63 |
| Pando, M.E. | 64 | Ruiz, S. | 65 | Valdés, J. | 7, 32 |
| Panjkovich, A. | 18, 27 | Ruiz-Lara, S. | 16, 41, 42, 53, 54, 56 | Valenzuela, C. | 53 |
| Papic, L. | 65 | Saavedra, C. | 6, 49 | Valenzuela, M.A. | 15, 40, 63, 64 |
| Parra, S. | 6, 31 | Saavedra, J.M. | 50 | Valiente, F. | 7, 32 |
| Parra, V. | 8, 34 | Sagua, H. | 52, 64 | Valiente-Echeverría, F. | 7, 32 |
| Pasten, P. | 8, 33 | Sakurada, A. | 6, 31 | Vallejos, M. | 7, 32 |
| Pedrozo, Z. | 8, 34, 61 | Salas, L. | 59 | Varela, C. | 50 |
| Pereira, L. | 11, 37, 56 | Sali, A. | 18, 27 | Vasquez, A. | 64, 65 |
| Pimentel, P. | 54 | Salinas, P. | 55 | Vasquez, M. | 54 |
| Pino, K. | 64 | Salinas, P. | 17, 42 | Veas, F. | 64 |
| Poblete, H. | 48 | Salvatierra, A. | 54 | Vega, A. | 11, 17, 37, 42 |
| Polanco, R. | 57 | San Martín, M. | 6, 31 | Vera-Otarola, J. | 9, 24, 52 |
| Poupin, M.J. | 19, 29 | Sanchez, A. | 58 | Verdugo, I. | 65 |
| Prado, C.E. | 15, 40 | Sanchez, C. | 62, 63 | Vergara, C. | 49 |
| Prieto, H. | 65 | Sandoval, C. | 65 | Vergara, V. | 58 |
| Puchi, M. | 58, 59 | Sandoval, M. | 50 | Vergara-Jaque, A. | 49 |
| Puente, J. | 63 | Santibáñez, P. | 57 | Vicuña, R. | 12, 38, 57, 58, 59 |
| Pulido, R. | 63 | Sanz-Luque, E. | 12, 21 | Vidaurre, S. | 15, 40 |
| Pérez, C. | 46 | Sargueil, B. | 9, 24 | Villarreal, J.M. | 6, 31 |
| Pérez, N. | 18, 27 | Sepulveda, F. | 10, 35 | Villegas, J. | 14, 15, 39, 40 |
| Pérez, R. | 16, 41, 54 | Sepulveda, H. | 11, 37 | Villota, C. | 15, 40 |
| Pérez-Acle, T. | 10, 35 | Sepúlveda, F. | 48 | Vollrath, V. | 9, 24 |
| Pérez-Arce, T. | 9, 24 | Sepúlveda- | 46 | Vásquez, C. | 6, 31, 50, 51 |
| Quatrini, R. | 7, 32 | Ugarte, J. | | Wielandt, A.M. | 15, 39 |
| Ramdohr, P. | 7, 32 | Siques, P. | 63 | Wilson, C.A.M. | 11, 36 |
| Ramírez, E. | 15, 40 | Slater, A.W. | 18, 27 | Yañez, M. | 54 |
| Ramos, P. | 52, 53 | Smalley, S. | 12, 38, 62 | Zhang, M. | 10, 35 |
| Ramírez, C. | 47 | Sobrevia, L. | 8, 34 | Zorzano, A. | 8, 34 |
| Ravanal, M.C. | 44 | Solis, L. | 12, 15, 38, 39, 62 | | |
| Rebolledo, B. | 58 | Solis, C. | 59 | | |
| Reyes, F. | 16, 41 | Soza, A. | 9, 24 | | |
| Rico, S. | 53 | Steinberg, X. | 56, 57 | | |
| | | Stuardo, M. | 58 | | |