Sociedad de Bioquímica de Chile

XV REUNION ANUAL

La Leonera, Chile

6 al 8 de agosto de 1992

Sociedad
de Bioquímica
de Chile

MELVIN BECERRA Y CIA. LTDA.
WEISSER ANALITICA
MERCK
BIOSCHILE

Sociedad de Bioquímica de Chile

XV REUNION ANUAL

PATROCINA

DEPARTAMENTO TECNICO DE INVESTIGACION
DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE

AUSPICIAN

MELVIN BECERRA Y CIA. LTDA.
WEISSER ANALITICA
MERCK
BIOSCHILE

La Leonera, Chile
6 al 8 de agosto de 1992

SOCIEDAD DE BIOQUIMICA DE CHILE
XV REUNION ANUAL

La Leonera, 6 al 8 de agosto de 1992

RESUMEN DE PROGRAMA

Jueves 6

9:30 – 11:30	Inscripción
12:00 – 13:00	CONFERENCIA PROFESOR O. CORI: Proteínas adhesivas de moluscos bivalvos. Dr. Luis Burzio (Universidad Austral de Chile, Valdivia)
13:15	Almuerzo
15:00 – 17:30	SIMPOSIO ESTRUCTURA DE PROTEINAS
17:30 – 17:45	Café
17:45 – 19:15	COMUNICACIONES LIBRES I. Metabolismo y Expresión Génica
20:00	Comida
21:30 – 23:30	AVANCES DE TESIS Y TRABAJO DE INCORPORACION

Viernes 7

9:00 – 10:45	COMUNICACIONES LIBRES II. Bioquímica de Vegetales y otros
10:45 – 11:00	Café
11:00 – 13:15	COMUNICACIONES LIBRES III. Biología Molecular y Microbiología
13:20	Almuerzo
15:00 – 17:30	SIMPOSIO REGULACION METABOLICA
17:30 – 17:45	Café
17:45 – 20:15	COMUNICACIONES LIBRES IV. Estructura de Proteínas y Enzimología
20:45	Cena de Clausura

Sábado 8

9:30 – 12:30 TALLER ENSEÑANZA DE LA BIOQUIMICA
"Perspectivas de la Bioquímica y Biología Molecular de 1992. Formación y campo de acción del investigador".

PROGRAMA

Jueves 6 de agosto de 1992

12:00 **CONFERENCIA PROFESOR O. CORI**

Burzio, L. (Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia), Proteínas adhesivas de moluscos bivalvos.

15:00 **SIMPOSIO ESTRUCTURA DE PROTEINAS**

Coordinador: **O. Monasterio**

Brunet J. E. (Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso). La fluorescencia resuelta en el tiempo en el estudio de la dinámica de proteínas.

Monasterio O., Barros L., González C., Sánchez R., Soto C. y Lagos, R. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Tubulina y la familia de proteínas que unen calcio.

Jabalquinto A. M., Encinas M. V., Rojas M. C. y Cardemil, E. (Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Santiago de Chile y Universidad de Chile). Estudios estructurales comparativos en las carboxiquinasas fosfoenolpirúvicas dependientes de ATP y de GTP.

Carvajal N. (Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción). Estructura y función de la arginasa.

17:45 **METABOLISMO Y EXPRESION GENICA**
Comunicaciones Libres I

Presidente: **J. C. Slebe**
Secretario: **M. A. Valenzuela**

17:45 **Kessi E.**, Guixé V., Ureta T. y Hofer H. W. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Departamento de Cs. Biol. Anim., Facultad de Cs. Vet. y Pec., Universidad de Chile y Fachbereich Biologie, Universidad de Konstanz). ¿Es lactato un intermediario de la biosíntesis de glicógeno en los oocitos de rana?

18:00 **Torres J.** C. y Babul J. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Consecuencias metabólicas de fosfofructoquinasas con propiedades cinéticas diferentes en *E. coli*.

18:15 **Orellana M.**, Rosenbluth H. y Valdés E. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Efecto del ayuno sobre el metabolismo microsomal de ácido láurico en hígado y riñón.

18:30 **Morgado N.**, Campos R., Sanhueza J. y Valenzuela A. (Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos. INTA. Universidad de Chile). Comportamiento de hepatocitos de rata sometidos a cambios en el aporte de oxígeno.

18:45 **Fuentes O. R.** y Orellana M. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Respuesta al ayuno de peroxisomas hepáticos y renales.

19:00 **Daniotti J. L.,** Landa C. A. y Maccioni H. J. F. (Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas U.N. Córdoba, Córdoba, Argentina). Cambios en la síntesis y composición de gangliósidos durante el desarrollo del epitelio pigmentario de la retina de pollo.

19:15 **Campos A.,** Urrea R. y Brandan E. (Departamento de Biología Celular y Molecu-lar, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Aislamiento y caracterización de proteoglicanes de heparán sulfato presentes en la superficie de células musculares esqueléticas.

21:30 **TRABAJO DE INCORPORACION Y AVANCES DE TESIS DE DOCTORADO**

Coordinadores: **T. Ureta**
A. Venegas

21:30 Soto C. (Programa de Doctorado en Ciencias, mención Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Válido como trabajo de incorporación a la Sociedad de Bioquímica de Chile. Gadolinio inhibe la polimerización de la tubulina e induce despolimerización de microtúbulos de manera similar a calcio.

22:00 **Hinrichsen P.** (Programa de Doctorado en Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile). Clonamiento y secuenciación del gen de la benzaldehído liasa de *Pseudomonas fluorescence* bivar AI.

22:30 **Jacob G.** (Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Metabolismo de inositol fosfato en oocitos de *Xenopus laevis.*

Viernes 7 de agosto de 1992

9:00 **BIOQUIMICA DE VEGETALES Y OTROS**
Comunicaciones libres II

Presidente: **L M. Pérez**
Secretario: **G. González**

9:00 **Irarrázabal C.** y Salazar I. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Evaluación del potencial carcinogénico de contaminantes del aire de Santiago.

9:15 **Adonis M.,** Vignolo P., Quiñones L. y Gil L. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Alteraciones en la composición de isoenzimas citocromo P-450 y en el metabolismo de ácidos grasos por extractos orgánicos del material particulado del aire de Santiago.

9:30 **Erazo S.** y O'Reilly S. (Instituto de Química, Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas, Universidad Católica de Valparaíso). Fototransformaciones de isómeros del beta-caroteno, efecto de la clorofila.

9:45 **Córdova C.**, Montoya R.*, González M.* y Tejada N. (Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú y *Departamento de Biología Molecular y Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas y RR.NN., Universidad de Concepción, Concepción, Chile). ADN cloroplastidial de tres poblaciones de algas gracilarioideas de la costa oeste del Pacífico.

10:00 **Curotto E.** y Concha M. (Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso). Producción de betaxilanasas extracelulares del hongo *Penicillium janthinellum* 87 M-115.

10:15 **Prieto H.**, Chiong M. y Pérez L. M. (Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Efecto de diferentes inductores sobre la vía fenil propanoide en callos de *Citrus limon.*

10:30 **Roco A.**, Castañeda P.*, Chiong M., Pérez L. M. (Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. *UMCE). Inducción de pal y peroxidasa en plántulas de *Citrus limon* como respuesta a heridas.

11:00 **BIOLOGIA MOLECULAR**
Comunicaciones libres III

Presidente: **A. Venegas**
Secretario: **H. Toledo**

11:00 **Venegas J.**, Salas J. y Solari A. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina. Universidad de Chile). Purificación y caracterización de tres DNA polimerasas de la forma proliferativa epimastigote de *T. cruzi.*

11:15 **Krautwurst H.**, Kim J., Frey P. A. y Cardemil E. (Departamento de Química, Universidad de Santiago de Chile e Institute for Enzyme Research, U. Wisconsin). Hacia la mutación sitio-específica de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de *Saccharomyces cerevisiae.*

11:30 **Martínez M. T.**, Hinrichsen J. P., Vásquez A., Gómez I., Becker M. I.* y Venegas A. (Laboratorio de Bioquímica, P. Universidad Católica de Chile. *Bios Chile IGSA). Estudios de epitopes de la porina OmpC de *Salmonella typhi* expuestos en la superficie bacteriana.

11:45 **Toledo H.**, Carlino A., Brot N. y Weissbach H. (Department of Gene Regulation, Roche Institute of Molecular Biology, USA). Efecto del ATP sobre la estructura molecular de Grp78.

12:00 **González C.**, Lagos R., Rabajille E. y Monasterio O. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Cuerpos de inclusión de polipéptidos de tubulina en *Escherichia coli.*

12:15 **Sánchez R.**, Lagos R. y Monasterio O. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Clonamiento, expresión y purificación de un péptido carboxilo-terminal de la subunidad-alfa de tubulina humana.

12:30 **Wilkens M.**, Vergara C., Monasterio O. y Lagos R. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Formación de canales iónicos en bicapas lipídicas por la microcina E492 de *Klebsiella pneumoniae.*

12:45 **León O.**, Peruzzo G., Quintana L., Urzúa U. y Slebe J. C. (Instituto de Bioquí-mica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile). Aislamiento y propiedades de agarasas de bacterias marinas.

13:00 **Meller C.**, Soto V., Hinrichsen V., Cachicas V., Figueroa G. y Yudelevich A. (Laboratorio de Bioquímica, P. Universidad Católica de Chile e INTA, Universidad de Chile). Clonamiento y caracterización de determinantes de adhesividad e invasividad de *Aeromonas sobria.*

15:00 **SIMPOSIO REGULACION METABOLICA**

Coordinadora: **C. Connelly**

Venegas A., Urra S., Gómez I., Bruce E., Martínez M. T., Torrejón M. (Laboratorio de Bioquímica, P. Universidad Católica de Chile). Expresión y regulación de genes de porinas de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli.*

Orellana O., Sagredo B., Vargas D., Salazar O. y Jedlicki E. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Organización y función de un gen para aminoacil tRNA sintetasa de *Thiobacillus ferrooxidans.*

Slebe J., Ludwig H., Reyes A., Cárcamo J. G., Mellado G., Sáez D. y León O. (Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile). Estructura y regulación de la fructosa-1,6-bisfosfatasa.

Connelly C., Hinrichs M. V., Jedlicki A. M., Gatica M. y Allende J. E. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Regulación de la caseína quinasa II de *Xenopus laevis* utilizando subunidades recombinantes.

Ureta T. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Compartimentación en la regulación de la utilización de glucosa en oocitos de anfibio.

17:45 **ESTRUCTURA DE PROTEINAS Y ENZIMOLOGIA**
Comunicaciones libres IV

Presidente: **N. Carvajal**
Secretario: **A. M. Jabalquinto**

17:45 **Alvear M.**, Encinas M. V., Herrera L. y Cardemil E. (Departamento de Ciencias Químicas, Universidad de la Frontera y Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Santiago de Chile). Distancias entre los cuatro residuos de Cis-364 de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de *Saccharomyces cerevisiae.*

18:00 **Encinas M. V.**, Rojas M. C., Cardemil E. y Goldie H. (Universidad de Chile, Universidad de Santiago de Chile y University of Saskatoon, Canadá). Fluorescencia intrínseca de las carboxiquinasas fosfoenolpirúvicas de rata y *Escherichia coli.*

18:15 **Herrera L.**, Jabalquinto A. M. y Cardemil E. (Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile). Proteólisis parcial de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de *Saccharomyces cerevisiae.*

18:30 **Jabalquinto A.** M., *Goldie H. y Cardemil E. (Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile y *Departamento de Microbiología,

Universidad de Saskatchewan, Canadá). Ausencia de grupos sulfhidrilos reactivos en la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica de *E. coli*.

18:45 **Martínez O. J. A.** (Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción). Estructura de la ribonucleasa T1. Análisis de los enlaces puente hidrógeno y estructura del solvente.

19:00 **Carvajal N.** y Torres C. (Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción). Rol de iones metálicos en la arginasa.

19:15 **Weber M.**, Frese G., Arroyo J., Tapia G. y González, G. (Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso). Efecto de especies reactivas de oxígeno sobre albúmina humana.

19:30 **Téllez R.**, Connelly C. y Allende J. E. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Acido fólico y derivados poliglutamilados inhiben a la caseína quinasa II de *Xenopus laevis*.

19:45 **Kettlun A. M.**, Valenzuela M. A., Pieber M., Alvarez A., Chayet L., Collados L., Mancilla M., Briones A., Silva M. A. y Traverso-Cori A. (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Caracterización cinética y funcional de la ATP-difosfohidrolasa de placenta humana.

20:00 **Chayet L.**, García L., Collados L., Valenzuela M. A., Kettlun A. M., Mancilla M. y Traverso-Cori A. (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Actividad ATP-difosfohidrolásica de fracción periplásmica de *E. coli*.

Sábado 8 de agosto de 1992

9:30 **TALLER ENSEÑANZA DE LA BIOQUIMICA**
"Perspectivas de la Bioquímica y Biología Molecular de 1992. Formación y campo de acción del investigador".

Coordinador: **Jorge Babul**

Vella F. (Department of Biochemistry, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canadá). Modern Education in Biochemistry.

Eyzaguirre J. (Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile). Proposiciones curriculares para responder a los desafíos actuales que enfrenta en nuestro país la carrera de Bioquímica.

Krauskopf M. (Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia). La formación del bioquímico en tiempos de cambio.

Foradori A. C. (Facultad de Medicina, Centro de Diagnóstico, P. Universidad Católica de Chile). Los requerimientos de bioquímica para una escuela de medicina del año 2000.

Babul J. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Doctorados en Bioquímica y Biología Molecular y la investigación en Ciencias Biológicas en Chile.

CONFERENCIA PROFESOR OSVALDO CORI

PROTEINAS ADHESIVAS DE MOLUSCOS BIVALVOS. Luis Burzio, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Los moluscos bivalvos del género mytilidos han desarrollado una estrategia que les permite sobrevivir en el ambiente turbulento del litoral marino, y aprovechar de esta zona la riqueza en nutrientes y el alto intercambio gaseoso. El mecanismo de adherencia está representando por una proteína de caracter básico (proteína polifenólica o PP), la cual contiene dihidròxifenilalanina (DOPA) que resulta de modificaciones postsintéticas de residuos de Tyr. Nuestro laboratorio está estudiando las PP de mytilidos chilenos, tales como la cholga (Aulacomya ater), choro zapato (Chromytilus chorus), así como de otras especies. Comparada con otras especies, la PP de A. ater presenta además de DOPA un alto contenido de Gly, HO-Lys y ausencia de Pro. Los péptidos trípticos de esta proteína corresponden a la secuencia de consenso: Ala-Gly-Dopa-Gly-Gly-X-Lys, donde el residuo X corresponde a Val, Ile o Leu. Fuera de las diferencias estructurales, estudios inmunológicos también demuestran la diferencia de esta proteína con las PP de otras especies. Además de estos residuos, se discutirán aspectos relacionados con entrecruzamiento enzimático de las PP, inmobilización de enzimas y el desarrollo de tecnologías para el uso de las PP como adhesivos de uso biomédico e industrial.

SIMPOSIO ESTRUCTURA DE PROTEINAS

Coordinador: O. Monasterio

LA FLUORESCENCIA RESUELTA EN EL TIEMPO EN EL ESTUDIO DE LA DINAMICA DE PROTEINAS. (Time resolved fluorescence in the study of protein dynamics). Brunet, J.E., Instituto de Química Universidad Católica de Valparaíso.

Las proteínas en solución pueden adoptar un gran número de subestados conformacionales que se pueden distinguir solo en base a pequeñas diferencias estructurales. La interconversión entre estos estados da origen al estudio de la dinámica de proteinas. Entre los métodos experimentales sobresale la espectroscopía de fluorescencia debido a que las especies excitadas electrónicamente tienen tiempos de vida del orden de los nanosegundos, que en general corresponde al tiempo de interconversión entre los subestados conformacionales de proteínas. Las técnicas empleadas consisten en el estudio del apagamiento de la emisión de un fluorósforo en el interior de una proteína mediante la difusión de moléculas apagadoras a través de la matriz proteica; El análisis del movimiento rotacional de un fluorósforo en el interior de una proteína mediante fluorescencia polarizada; El estudio de la relajación de la matriz proteica alrededor de una sonda fluorescente en un estado electrónico excitado y el estudio directo del tiempo de vida de la fluorescencia intrínseca o extrínseca de un fluorósforo apropiado.

Se analizarán las ventajas y desventajas de las técnicas enunciadas más arriba, se estudiarán las condiciones para su empleo y se presentarán algunos ejemplos principalmente en base a estudios con hemoproteinas.

Proyecto FONDECYT 539-91

TUBULINA Y LA FAMILIA DE PROTEINAS QUE UNEN CALCIO. (Tubulin and the family of calcium binding proteins). Monasterio, O., Barros, L., González, C., Sánchez, R., Soto, C. y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La familia de proteínas que unen calcio tiene como característica estructural común el sitio de unión del catión. Este sitio está compuesto por alrededor de 30 aminoácidos estructurados en un arreglo hélice-vuelta-hélice (HLH), muy conservado. Esta disposición se repite dependiendo del número de sitios de unión de calcio y la unión a más de un sitio genera cooperatividad. La polimerización de la tubulina, un heterodímero con subunidades denominadas alfa y beta, es inhibida por calcio y hemos determinado que este catión se une a dos sitios en forma cooperativa e induce actividad GTPásica. La concentración de calcio necesaria para obtener un 50% de: unión del catión, inhibición de la polimerización y estimulación de la actividad GTPásica es similar, indicando que estos procesos se encuentran relacionados. La predicción de estructura secundaria de los últimos 38 aminoácidos de la región carboxilo terminal de ambas subunidades, indica que sólo la subunidad beta presentaría el arreglo HLH y uniría calcio. Esta predicción se vió confirmada por tinción diferencial con el colorante "stains all", en geles de poliacrilamida, de las subunidades de tubulina y de fragmentos carboxilo terminal, expresados como péptidos de fusión en E. coli. Este colorante permite identificar las proteínas que unen calcio. La unión cooperativa de calcio, la estructura HLH de la subunidad beta y la secuencia de aminoácidos muestran que la tubulina tiene características comunes con la familia de proteínas que unen calcio.

Financiado por proyecto FONDECYT 1051/92.

ESTUDIOS ESTRUCTURALES COMPARATIVOS EN LAS CARBOXIQUINASAS FOSFOENOLPIRUVICAS DEPENDIENTES DE ATP Y DE GTP. (Structural comparative studies on ATP- and GTP-dependent phosphoenolpyruvate carboxykinases). Jabalquinto, A.M., Encinas, M.V., *Rojas, M.C. y Cardemil, E. Departamentos de Química, Facultad de Ciencias U. de Santiago de Chile y *U. de Chile.

Las carboxiquinasas fosfoenolpirúvicas catalizan la reacción:

$$\text{OXALOACETATO} + \text{NTP} \xleftarrow{Me^{2+}} \text{PEP} + \text{NDP} + CO_2$$

de acuerdo a los requerimientos de nucleótido se puede dividir a estas enzimas en dos grupos 1) dependientes de GTP (animales) y 2) dependientes de ATP (levaduras, plantas y microorganismos).

En esta presentación se discutirán los siguientes tópicos: a) Estructura primaria, b) Estructura cuaternaria, c)Estudios del sitio activo mediante modificación química, d) Caracterización fisicoquímica del sitio de unión del nucleótido de las enzimas de rata y levaduras, y e) Emisión de fluorescencia de los triptofanos para las enzimas de rata, levaduras y E. coli.

Financiado por FONDECYT 91-0446 y DICYT-USACH

ESTRUCTURA Y FUNCION DE LA ARGINASA (Structure and function of arginase). Nelson Carvajal B., Depto. de Biología Molecular, Fac. de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

En años recientes, se ha visto la necesidad de reexaminar el rol de los iones metálicos y las relaciones entre la estructura y una función biológica particular de la arginasa. En este trabajo, de discute el estado actual del problema y sus proyecciones futuras.
Existen claras diferencias en la localización subcelular y las propiedades cinéticas de algunas de las arginasas analizadas. A partir de los cDNA, se han predicho las secuencias primarias de algunas arginasas y se han descrito enzimas formadas desde una hasta cuatro subunidades. Un caso particular lo representa la enzima de S. cerevisiae, que corresponde a un trímero que interacciona con fines regulatorios con una molécula también trimérica de ornitina transcarbamilasa. Con respecto a la arginasa de hígado humano, se han propuesto estructuras tetraméricas, triméricas y aún monoméricas lo que se explicaría, de acuerdo a nuestros resultados, por una relación entre el estado de agregación y la composición y pH del medio.
El requerimiento de metales es cubierto principalmente por Mn^{2+}, que es indispensable para la actividad y la mantención de la estructura cuaternaria de las arginasas oligoméricas. Un caso particular es, de nuevo, la enzima de S. cerevisiae, en la que participan Mn^{2+} y Zn^{2+} con roles catalítico y estructural, respectivamente.

FONDECYT 92-0294

SIMPOSIO REGULACION METABOLICA

Coordinadora: C. Connelly

EXPRESION Y REGULACION DE GENES DE PORINAS DE *SALMONELLA TYPHI* Y *ESCHERICHIA COLI*.
(Expression and regulation of porin genes from *Salmonella typhi* and *Escherichia coli*).
Venegas, A., Urra, S., Gómez, I., Bruce, E., Martínez, M.T., Torrejón, M. Laboratorio de Bioquímica. P. Universidad Católica de Chile.

La expresión de los genes de las porinas OmpF y OmpC de *E. coli* están bajo regulación por factores externos como osmolaridad y temperatura, modulados por otros mecanismos responsables del ajuste fino en el balance de los niveles de ambas porinas en la membrana externa. Esto último se ha demostrado en *E. coli* frente a un incremento de osmolaridad del medio: al aumentar OmpC, disminuye en proporción OmpF. Esto ocurre por activación del gen *ompC* por OmpR, factor que también activa la transcripción del gen *micF*, produciendo un RNA "antisense" que inhibe la traducción del mRNA de OmpF.

Nuestros estudios de expresión, analizando los niveles de porinas por Western blot, y utilizando el gen *micF* de *Salmonella typhi* en *E. coli*, hacen suponer que este tipo de regulación también opera en *Salmonella typhi*.

Además, hemos detectado inhibición de la exportación de OmpC hacia la membrana externa, probablemente a nivel de traducción. La expresión del gen *ompC* de *S. typhi* incorporado en gran número de copias, inhibe la expresión de la porina OmpC del hospedero *E. coli*. Este efecto depende de la integridad de la región del péptido señal del gen *ompC* de *S. typhi* utilizado en la transformación de *E. coli*.

Finalmente, se discuten resultados obtenidos al introducir, por electroporación, genes de porinas de *E. coli* en *S. typhi*.

Financiado por proyecto FONDECYT 682-91.

ORGANIZACION Y FUNCION DE UN GEN PARA AMINOACIL tRNA SINTETASA DE Thiobacillus ferrooxidans.(Organization of an aminoacil tRNA synthetase gene from T.ferrooxidans).
Orellana, O., Sagredo, B., Vargas, D., Salazar, O. y Jedlicki, E.
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Las aminoacil tRNA sintetasas (RS) catalizan la esterificacion de un aminoácido en el extremo 3' de un tRNA específico, constituyendo esta reacción la etapa crucial en la traducción correcta del mensaje genetico. En bacterias se ha descrito la presencia de una RS por cada aminoácido. Salvo contadas excepciones, existe un sólo gen para cada sintetasa, por lo que su expresión es vital para la sobrevivencia de la celula. Recientemente se ha descrito que en B. subtilis existen dos genes para tirosil RS (tyrS y tyrZ). Se observó que la secuencia del polipéptido codificado por tyrZ presentaba un grado limitado de similitud (27%) con la secuencia aminoacídica de las otras tyr RS descritas. En nuestro laboratorio hemos clonado y secuenciado del genoma de T. ferrooxidans (una bacteria acidófila que utiliza ión ferroso o compuestos de azufre reducido como fuente de energia)un segmento de DNA que codifica para una tirosil RS (tyrZT). La secuencia del polipéptido codificado por este gen presentaba un 50% de similitud con el producto del gen tyrZ de B. subtilis. Estudios sobre la localización genómica revelaron que el gen tyrZT estaba adyacente al promotor del operón de RNA ribosomal rrnT2. Estudios sobre la expresión indicaron que el gen tyrZT era funcional sólo si la bacteria era cultivada en un medio con ión ferroso pero no tiosulfato como fuente de energia. Se encuentran en progreso los estudios para determinar la funcionalidad del polipéptido codificado por tyrZT.

Financiado por FONDECYT (proyecto 92-967) y D.T.I (proyecto B-3380).

ESTRUCTURA Y REGULACION DE LA FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA.
(Structure and Regulation of fructose-1,6-bisphosphatase)
Slebe, J.C., Ludwig, H., Reyes, A., Carcamo, J.G., Mellado, G., Saez, D. y León, O. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) cataliza la hidrólisis de Fru-1,6-P_2 a fructosa 6-fosfato y P_i. La regulación de la actividad en el hígado y riñón es gobernada predominantemente por el nivel de su inhibidor, Fru-2,6-P_2. Concentraciones micromolares del azucar bisfosfato inhiben la enzima y potencian su inhibición por AMP, reduciendo efectivamente la actividad FBPasica cuando las velocidades glicolíticas son altas. Sin embargo, la naturaleza de la inhibición de la enzima por Fru-2,6-P_2 es controvertida. Algunos autores han propuesto la existencia de un sitio alostérico para el Fru-2,6-P_2, pero otros favorecen una interacción del inhibidor sólo a nivel del sitio catalítico. Nosotros hemos postulado que la enzima tiene un "dominio de unión de fructosa-bisfosfato", que acomoda Fru-1,6-P_2 o Fru-2,6-P_2, pero cada ligando ocuparía varios determinantes de unión diferentes. La acción de otros ligandos (Mg^{2+}, K^+) también afectan la actividad. Se analizarán algunos modelos y se discutirán otros posibles mecanismos de regulación: agregación e interacción con otras proteínas citosólicas. La enzima aislada de diversas fuentes es un tetrámero de subunidades idénticas. Las secuencias aminoacídicas de varias FBPasas muestran que la identidad entre las enzimas es alrededor de 40%, pero presentan regiones de alta similitud (70-80%), indicando que se han conservado ciertos elementos estructurales importantes para la acción y regulación de la enzima. Datos de rayos-x de la enzima de riñón de cerdo permiten tener una visión más clara de la arquitectura molecular de la FBPasa, y junto a otras técnicas, permitirán en el futuro establecer el número, la naturaleza y localización de todos los sitios de unión en la molécula de enzima.

(Financiado por: DID-UACH, S-92-40; FONDECYT, 92-150).

REGULACION DE LA CASEINA QUINASA II DE *Xenopus laevis* UTILIZANDO SUBUNIDADES RECOMBINANTES.
(Regulation of casein kinase II from *Xenopus laevis* by means of recombinant subunits.)
Connelly, C., Hinrichs, M.V., Jedlicki, A.M., Gatica, M., y Allende, J.E. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La caseína quinasa II (CKII) es una proteína quinasa presente en el núcleo y citosol de células eucarióticas que parece intervenir en la regulación de expresión génica y proliferación celular. CKII fosforila varias proteínas nucleares clave como la RNA polimerasa, DNA topoisomerasa y nucleoplasmina. Es una de las quinasas más abundantes en el núcleo de oocitos de *Xenopus laevis*, sin embargo se conoce poco sobre los mecanismos de su regulación. Hemos logrado el clonamiento, secuenciación y expresión en bacterias de las dos subunidades de la CKII de *X. laevis*. Las subunidades alfa y bcta expresadas en bacterias han sido purificadas a homogeneidad y pueden ser reconstituidas para mostrar una actividad específica muy alta. La holoenzima CKII reconstituida retiene la capacidad de autofosforilarse en la subunidad beta. Utilizando la técnica de mutagénesis sitio dirigida, hemos obtenido alteraciones en la subunidad beta en los sitios de autofosforilación y en un posible sitio de fosforilación catalizada por la proteína quinasa cdc2. Se utilizarán estos y otros mutantes para analizar el mecanismo molecular de la regulación de la actividad de CKII.

Apoyado por FONDECYT y The Council for Tobacco Research.

COMPARTIMENTACION EN LA REGULACION DE LA UTILIZACION DE GLUCOSA EN OOCITOS DE ANFIBIO (Compartmentation in the regulation of glucose utilization by amphibian oocytes). **Tito Ureta**. *Departamento de Biologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.*

Se usa el término compartimentación metabólica para referirse a reacciones aisladas de otros eventos celulares. Se presentarán datos de la literatura que sugieren que la compartimentación es un mecanismo decisivo para la regulación del flujo de metabolitos. También se describirán argumentos para la visión contraria. Se mostrarán experimentos de nuestro laboratorio que sugieren un grado importante de compartimentación metabólica en oocitos de anfibio: a) no hay dilución isotópica de la síntesis de glicógeno (pero sí de la producción de $^{14}CO_2$) si simultáneamente se coinyectan glucosa radiactiva e intermediarios no marcados. b) el transporte de glucosa es etapa limitante para la síntesis de glicógeno pero no para la operación del ciclo de las pentosas; c) La coinyección de gliceraldehido-3-P o fructosa-2,6-bisP inhibe profundamente la síntesis de glicógeno, pero no afecta la producción de $^{14}CO_2$, a partir de glucosa marcada; d) la inyección de enzimas o de anticuerpos anti-enzimas afecta diferencialmente a las dos vías de utilización de glucosa. Finalmente, se mostrarán resultados que sugieren la presencia de una vía glicolítica muy rápida (10 seg a 3 min) que convierte glucosa en lactato; la síntesis de glicógeno es mucho lenta (8 a 15 min) y se produce por gluconeogénesis a partir de triosas. (Financiado por FONDECYT 0829-91 y por la Volkswagenwerk Stiftung).

TALLER ENSEÑANZA DE LA BIOQUIMICA
Perspectivas de la Bioquímica y Biología Molecular de 1992. Formación y campo de acción del investigador

Coordinador: J. Babul

MODERN EDUCATION IN BIOCHEMISTRY. Vella, F. Department of Biochemistry, University to Saskatchewan, Saskatoon, Canada.

Biochemistry has been the fastest growing discipline in the biological sciences for the past several decades. It has become the fundamental science neccesary for the understanding of living systems since it supplies most of the terminology by which these systems are described and most of the principles essential for the majority of thinking about such systems.

This rapid growth has serious implications for biochemical education, which must concentrate more on fundamental general principles and the acquisition of a variety of intellectual skills which will prepare students for future work in the face of a rapidly expanding volume of new knowledge whose pace shows no signs of slowing down, than on a mastery of mostly descriptive textbook knowledge acquired mostly by rote learning.

Modern educational research has shown that more effective and useful learning occurs when students are actively engaged in study than by the traditional didactic approach of set lectures and laboratory exercises. These results should be incorporated in the planning and conducting of educational programs if these are to achieve the desired effects. This research forms the basis for most of the recommendations that have been made by authoritative educational bodies in North America and Europe in recent years, and which include (1) emphasis on attitudes and values, intellectual and technical skills, together with usable knowledge, (2) reduction in didactic methods that emphasize passive learning, (3) greater emphasis on self- and collaborative education, (4) emphasis on problem solving, and (5) learning in an integrated, interdisciplinary way. These recommendations apply as much to undergraduate as they do to graduate education. Their implementation is a challenge for University faculty.

PROPOSICIONES CURRICULARES PARA RESPONDER A LOS DESAFIOS ACTUALES QUE ENFRENTA EN NUESTRO PAIS LA CARRERA DE BIOQUIMICA.

Dr. Jaime Eyzaguirre, Laboratorio de Bioquimica,Pontificia Universidad Católica de Chile.

La carrera de Bioquímica fue fundada en la Universidad de Chile en 1958, con el objeto primario de formar futuros investigadores en las ciencias biológicas básicas.

Treinta y cuatro años después, nos encontramos con que seis Universidades del país ofrecen un programa de pre-grado en Bioquímica, y varias, también, programas de Magister y Doctorado en distintas disciplinas biológicas.

Simultáneamente, han ocurrido en nuestro país profundos cambios estructurales, que repercuten en los requerimientos y naturaleza de los profesionales necesarios para enfrentar la nueva realidad. Entre los desafíos que se plantean, está la apertura al exterior y la gran competitividad que esto genera. Nuestras alternativas de desarrollo pasan por introducir valor agregado a nuestras exportaciones, entre las cuales han tenido especial desarrollo las agroindustriales y de productos del mar. En este campo, los Bioquímicos pueden hacer un valioso aporte.

Se pretende formular alternativas de formación para los Bioquímicos, que respondan a estos nuevos requerimientos y oportunidades profesionales.

LA FORMACION DEL BIOQUÍMICO EN TIEMPOS DE CAMBIO.

Manuel Krauskopf, Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La hora presente es hora de modernidad. El cambio vertiginoso que caracterizaba el devenir de los países más desarrollados está siendo asumido en algunos países de América Latina, y particularmente en Chile. El país al abrir las compuertas de su economía se propone alcanzar niveles de eficiencia y eficacia que le permitan desarrollarse en el marco de un mercado globalizado y altamente competitivo. Este no es el único aspecto que distingue la modernidad que el proyecto histórico se plantea. No obstante, conviene considerarlo y reflexionar si la Universidad debe asumirlo en la formación de sus profesionales y en consecuencia, de los bioquímicos. Es de provecho además, examinar el perfil del bioquímico que la sociedad demanda e intentar averiguar si de hecho el país necesita modificar radicalmente la formación de éste para responder al proyecto histórico con el que se encuentra comprometido.

Todo parece indicar que hoy como ayer, el bioquímico debe tener, -en lo principal-, un sólido conocimiento de las disciplinas básicas, a saber matemáticas, física, química y biología, a un nivel tal, que garantice la comprensión de los principios que rigen la lógica molecular de la vida, y de las técnicas troncales que permiten su estudio y aplicación. La modernidad reclama eliminar cuando existe, lo superfluo y accesorio, en especial si ello puede afectar la percepción del educando respecto al valor que tiene para su desempeño, la intelección que éste consiga sobre la cimiente molecular de la vida. En efecto, toda vez que lo profesional no es otra cosa que la proyección experta de la utilidad que deriva de estos conocimientos en distintos campos, el curriculum de estudios y el modo de concebir la enseñanza de las asignaturas que cubran los aspectos señalados, imponen mantener la esencialidad de la formación básica.

Son especialmente los avances sobre el conocimiento básico los que han enriquecido la posible contribución del bioquímico en medicina, farmacia, sector silvoagropecuario, ambiental, idustrial, etc. Por ello, le corresponde al bioquímico un creciente protagonismo en el desarrollo de la sociedad toda.

Se discutirán los aspectos señalados y los aspectos positivos y negativos que el modo de plantear políticas públicas puede tener en la respuestas educativas en tiempos de cambio. Se analizará la dinámica de las universidades en el escenario actual.

LOS REQUERIMIENTOS DE BIOQUIMICA PARA UNA ESCUELA DE MEDICINA DEL AÑO 2000.

Foradori, A.C. Facultad de Medicina, Centro de Diagnóstico, P. Universidad Católica de Chile.

El incremento exponencial de la Bioquímica Experimental pone en duro aprietos a los docentes para transmitir el conocimiento relevante especialmente a las profesiones relacionadas. La Medicina (entendida como el arte y la Ciencia Biológica aplicada orientada a la recuperación y mantención de la Salud individual y colectiva) opera con una metodología en todo similar al investigador científico o el policial. El espacio del actuar Médico es el laberinto (U. Eco "Apostillas a El nombre de la Rosa"). La Medicina requiere así de signos asociados por una lógica que permite moverse dentro del laberinto de la Clínica. La Bioquímica es, sin duda, quien más signos y lógica ha aportado a la Medicina Moderna y en ese sentido ha optimizado la habilidad del Médico para desplazarse en el Laberinto de la Clínica. Sin embargo por el carácter de extremo raduccionismo filosófico de la Bioquímica se están creando muchos signos que no son comprensibles para los Médicos (Por Ej. El Journal of Biòlogical Chemistry se ha transformado en un texto iniciático). El Proyecto Genoma Humano, una obra maestra de la Tecnología Bioquímica, reduce al individuo a una serie de Secuencias de Nucleótidos, se requiere un enorme trabajo (más grande aún que el propio Proyecto original) para entender al individuo o a la Sociedad y a sus alteraciones: ¿Qué requiere una Escuela de Medicina en el umbral del año dos mil?.

1) Enumeración de los componentes básicos (desde el agua).
2) Ensamble de las Macromoléculas (Proteínas, Polisacáridos, Acidos Nucleicos).
3) Termodinámica Básica y el Tiempo Biológico (Catalisis).
4) La lógica de la síntesis y degradación (metabolismo).
5) La lógica de la Regulación (in situ).
6) La lógica de la Regulación más allá del individuo (genética).
7) La Bioquímica de algunos Modelos Celulares (Membranas contactos, excitabilidad, motilidad, sentidos).
8) Modelos de lógica Bioquímica de grandes problemas Médicos.

DOCTORADOS EN BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR Y LA INVESTIGACION EN CIENCIAS BIOLOGICAS EN CHILE.

Jorge Babul, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En 1971 se iniciaron en Chile los programas de postgrado en Bioquímica y Biología Molecular (B y BM) con la finalidad de: a) completar la formación de los licenciados en ciencias y profesionales bioquímicos al nivel de doctorado, b) elevar el nivel de la enseñanza en estos campos en las universidades y c) crear o mejorar los laboratorios de investigación asociados a las diversas instituciones responsables del desarrollo científico y tecnológico. Además, se pretendía que estos profesionales tuvieran la oportunidad, a través de la realización de sus tesis, de enfrentarse en forma independiente a la solución de los problemas que se hubieren planteado.

Hasta 1991 aproximadamente 55 alumnos han realizado su tesis en B y BM y se han graduado de doctor (Doct) en Chile. El 70 % provenía de la licenciatura en bioquímica y el 15 % de la de biología. Estos Doct constituyen el 55 % de los Doct en biología graduados en Chile y el 20 % de los Doct en biología activos en el país. El 60 % de los Doct en B y BM graduados en Chile se encuentra participando en proyectos Fondecyt y un 20 % trabaja en el extranjero. Los que trabajan en el país representan el 55 % de los Doct activos en B y BM en Chile; el 55 % se desempeña en bioquímica y el 30 % en biología molecular. En la actualidad se están ejecutando 33 proyectos Fondecyt en B y BM, de un total de 195 proyectos en Biología.

Se discutirá la formación de los licenciados en biología y en bioquímica en relación a su preparación para estudios de postgrado en B y BM y la formación de doctores en relación a su quehacer en investigación en estos y otros campos de la Biología, tanto en Chile como en el extranjero.

TRABAJO DE INCORPORACION

GADOLINIO INHIBE LA POLIMERIZACION DE LA TUBULINA E INDUCE DESPOLIMERIZACION DE MICROTUBULOS DE MANERA SIMILAR A CALCIO. (Gadolinium inhibits tubulin polymerization and induces microtubule disassembly in a similar manner that calcium). Soto, C. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los iones lantánidos Gd^{3+} y Nd^{3+}, pero no Tb^{3+} y Eu^{3+}, son capaces de inhibir la polimerización de tubulina e inducir la despolimerización de los microtúbulos, en una manera similar a Ca^{2+}. La unión de Gd^{3+} a tubulina fue caracterizada a través de Espectroscopía de Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR). La unión de Gd^{3+} a dos sitios de unión de alta afinidad en la tubulina fue cooperativa, mostrando un coeficiente de Hill de 1,5 y una constante de semisaturación de 8×10^{-7} M. Ca^{2+} interactúa cooperativamente con la tubulina en dos sitios de unión de alta afinidad, encontrandose un coeficiente de Hill de 1.4 y una constante de semisaturación de $2\text{-}3 \times 10^{-6}$ M. La unión de Ca^{2+} fue independiente de la concentración de tubulina y no promueve la agregación de la proteína. Experimentos de competencia entre Gd^{3+} y Ca^{2+} fueron seguidos a través de EPR, encontrandose que Gd^{3+} y Ca^{2+} compiten por los sitios de unión de alta y baja afinidad en la tubulina.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que Gd^{3+} es una sonda paramagnética util para estudiar las características de los sitios de unión de Ca^{2+} de alta afinidad en la tubulina.

Financiado por los proyectos FONDECYT 1133-89, 0043-90 y 1051-92 y DTI PG-0046-91.

COMUNICACIONES LIBRES

ALTERACIONES EN LA COMPOSICION DE ISOENZIMAS CITOCROMO P-450 Y EN EL METABOLISMO DE ACIDOS GRASOS POR EXTRACTOS ORGANICOS DEL MATERIAL PARTICULADO DEL AIRE DE SANTIAGO(Alterations in the composition of cytochrome P-450 isozymes and in fatty acids metabolism by organic extracts from Santiago airborne particles). Adonis M., Vigmolo P., Quiñones, L. y Gil L. Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina Universidad de Chile.

La isoenzima citocromo P-450 IVAI cataliza la hidroxilación w y w-1 de ácidos grasos, entre ellos ácido laurico y ácido araquidónico. Otra isoenzima la citocromo P-450 IAI posee un alto nivel de actividad catalítica sobre hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). Diversos estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado que las actividades de citocromo P-450 IVAI y IAI se ven claramente afectadas por la desnutrición. Además estudios previos de nuestro laboratorio han revelado una alta concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y un alto poder mutagénico en extractos orgánicos del aire de Santiago.
En este estudio se muestra el efecto de diferentes extractos orgánicos del material particulado del aire de Santiago, sobre el metabolismo in vitro del ácido laurico. Ratas normales y desnutridas fueron inyectadas con extractos orgánicos(40 mg/kg). La actividad ácido laurico hidroxilasa se determinó por HPLC en fase reversa, identificando y cuantificando los productos hidroxilados en posición w y w-1. La identificación de las isoenzimas P-450 IVAI y IAI en diferentes preparaciones microsomales de ratas normales y desnutridas con y sin tratamiento se hizo por Western Blot. La administración de los extractos orgánicos produjo un incremento en la isoenzima P-450 IAI , una disminución en la isoenzima P-450 IVAI y un marcado decrecimiento en las actividades w y w-1 de ácido laurico hidroxilasa, tanto en ratas desnutridas como normales. Estos resultados sugieren que los extractos del material particulado del aire de Santiago alteran la composición de isoenzimas citocromo P-450 afectando el metabolismo de HPAs y de ácidos grasos.

Financiado por proyectos FONDECYT 1314-91 Y OEA 03-91-52B - 290 CHI.

DISTANCIAS ENTRE LOS CUATRO RESIDUOS DE CIS-364 DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA (PEPCK) DE Saccharomyces cerevisiae.(DISTANCES BETWEEN THE FOUR CYS-364 RESIDUES OF Saccharomyces cerevisiae PHOSPHOENOLPYRUVATE CARBOXY-KINASE). *[1]Alvear,M., [2]Encinas,M.V., [2]Herrera, L. y [2]Cardemil,E. [1]Departamento de Ciencias Químicas, Universidad de la Frontera, y [2]Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.*

La PEPCK de levadura está formada por cuatro subunidades iguales de 61,3 kDa. Experimentos previos (Alvear y col.(1992) Biochim. Biophys.Acta 1119. 35-38) sugieren que la Cis-364 corresponde a un residuo del sitio activo.
Con el objeto de determinar las distancias entre los residuos de cisteina-364 dentro del tetrámero, la enzima se marcó con N-(yodoacetil)-N'-(5-sulfo-1-naftil)etilendiamina (1,5-IAEDANS) en uno de ellos, y con diferentes proporciones de 4-[N-(yodoacetoxi)etil-N-metilamino]-7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol (IANBD) en los 3 restantes. Se midió la transferencia de energía singlete-singlete no radiativa entre el dador (AEDANS) y el aceptor (ANBD), y del análisis de los datos se calcularon las distancias.
Las distancias (A°) obtenidas para las proporciones AEDANS:ANBD 1:1, 1:2 y 1:3 fueron, respectivamente, 44±2, 45±2 y 38±1. Experimentos de entrecruzamiento de las subunidades de la enzima nativa indicaron la formación preponderante de especies de 120 kDa.
Los datos pueden interpretarse suponiendo que la estructura cuaternaria de la proteína consiste en una asociación de dos dímeros.

Financiado por Fondecyt 91-0446 y DICYT-USACH.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE PROTEOGLICANES DE HEPARAN SULFATO PRESENTES EN LA SUPERFICIE DE CELULAS MUSCULARES ESQUELETICAS. (Isolation and characterization of cell surface heparan sulfate proteoglycans from skeletal muscle cells). A. Campos, R. Urrea y E. Brandan. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: N.C. Inestrosa).

La matriz extracelular (MEC) está compuesta de varias glicoproteínas, colágenos y proteoglicanes (PGs). Especial interés se ha centrado en la presencia de PGs hidrofóbicos asociados a la membrana plasmática. Existe evidencia experimental que indica que éstos participarían en la unión y presentación a la célula de factores de crecimiento o bien como sitios de unión entre la célula y la MEC. Hemos evaluado, localizado y caracterizado a nivel estructural PGs hidrofóbicos presentes en la membrana de células musculares diferenciadas in vitro (C_2C_{12}).

Estudios de solubilización seguidos de caracterización estructural indican que en la superficie de las células C_2C_{12} existe al menos un PG de heparán sulfato (PGHS) anclado a la membrana vía fosfatidil inositol. Este PGHS presenta un tamaño molecular de aproximadamente 220 kDa. Está formado por una proteína central de 67 kDa y cuatro o cinco cadenas de heparán sulfato de 25-35 kDa. Este PGHS fue inmunoprecipitado con anticuerpos contra un PGHS proveniente de células de Schwann (Carey and Stahl, J. Cell Biol. 111, 2053-2062, 1990), tanto desde extractos en detergentes de las C_2C_{12}, del medio de secreción de éstas o bien luego de tratamiento de la superficie celular con la enzima fosfatidil inositol fosfolipasa C. La naturaleza hidrofóbica de este PGHS fue estudiada por incorporación a liposomas de fosfatidilcolina. Experimentos de pulso y caza sugieren que este PGHS se encuentra inicialmente en la superficie de las C_2C_{12} para luego ser liberado al medio de secreción. Estudios de inmunocitolocalización indirecta en cortes de músculo esquelético de rata indican que este PGHS se encuentra en la superficie de las fibras musculares co-localizando con laminina presente en la lámina basal a nivel de endomisio. No se encontró este PGHS en el perimisio muscular donde localiza principalmente la fibronectina.

Estos resultados sugieren que células musculares in vitro y músculo esquelético adulto sintetizan un PGHS el cual se encuentra en la membrana plasmática anclado vía fosfatidil inositol y que co-localiza con laminina.

(Financiado parcialmente por IFS 1407/2)

ROL DE IONES METALICOS EN LA ARGINASA. (Role of metal ions in arginase). Nelson Carvajal y Claudio Torres. Depto. de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Aún persisten importantes interrogantes acerca del rol del metal en la arginasa, lo que nos ha movido a revisar el problema.
Mientras la enzima nativa es estable a 70°C, las subunidades de arginasa de hígado humano se inactivan aún a 37 °C. Los sustratos (arginina o canavanina) y los inhibidores competitivos (ornitina y lisina) protegen en forma específica y las constantes de disociación determinadas a partir de estos efectos, concuerdan con las constantes determinadas en estudios cinéticos. La cinética de inactivación es bifásica (aún en presencia de los sustratos o inhibidores), lo que interpretamos en base a dos conformaciones denaturadas. Los valores de Km o Ki no son afectados por el tipo de metal activador (Mn, Co, Ni, Cd) y el Zn es un inhibidor de la enzima activada por estos iones metálicos.
Las subunidades no se reactivan con metales después de incubarlas con p-hydroximercuribenzoato, aún en presencia de sustratos o inhibidores competitivos. En cambio, el complejo enzima-metal es ligeramente activado por este reactivo. La enzima es inactivada por 2-hidroxinitrobenzil-bromuro, aún en presencia de sustratos, inhibidores o metales.
Se sugiere que el metal no participa en la unión del sustrato a la enzima y se discute su participación en términos esencialmente estructurales.

PROYECTO FONDECYT 92-0294

ACTIVIDAD ATP-DIFOSFOHIDROLASICA DE FRACCION PERIPLASMICA DE *E.coli*. (Periplasmic ATP-diphosphohydrolase activity from *E.coli*) Chayet,L.,García,L., Collados,L.,Valenzuela, M.A.,Kettlun,A.M.,Mancilla,M. y Traverso-Cori,A. Dpto de Bioquímica y Biología Molecular. Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas. Univ. de Chile.

La actividad ATP-difosfohidrolásica o apirásica periplásmica purificada por electro enfoque difiere de las apirasas descritas en organismos superiores por presentar actividad 5'AMPasa además de ATPasa y ADPasa.

Esta enzima es muy inespecífica frente a nucleosidos di y trifosfato. Como los derivados difosforados de nerilo y geranilo no son hidrolizados, la función de la apirasa no estaría relacionada con la biosíntesis de la pared bacteriana donde participa el Dol-PP Esta enzima no se asemeja a la ATPasa mitocondrial porque es insensible a azida y oligomicina y es poco sensible a DCCD.Tampoco se parece a la (Na^+-K^+)ATPasa porque la ouabaína no tiene efecto inhibidor. En cambio es inhibida por F^-, VO^{3-} y DES. La actividad ADPásica medida sería de la apirasa ya que Ap5A, inhibidor específico de la quinasa adenílica no la disminuye. El tipo de dependencia de cationes bivalentes es un parámetro que la diferencia de las enzimas de eucariontes,puesto que el grado de activación va en el sentido $Co^{2+}>Mn^{2+}>Mg^{2+}>Ca^{2+}>Zn^{2+}$.En las enzimas de origen animal y vegetal es más efectivo Ca^{2+}. La Concanavalina A inhibe a la enzima lo que sugiere que podría ser una glicoproteína igual que la de eucariontes.

Financiado por proyecto Fondecyt 90-1006.

ADN CLOROPLASTIDIAL DE TRES POBLACIONES DE ALGAS GRACILARIOIDEAS DE LA COSTA OESTE DEL PACIFICO. (Chloroplastidial DNA from three population of gracilarioidea algae of the Pacific coast). Córdova, C., Montoya, R.(*), Gonzalez, M.(*) y Tejada, M. Dpto. de Botánica, Facultad de C. Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima 14-002, Perú. (*) Dpto. de Biología Molecular y Dpto de Botánica, Fac. de C. Biológicas y RR. NN., Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Las algas gracilarioideas (RHODOPHYTA, GRACILARIALES) tienen importancia económica por la presencia de polisacáridos gelificantes (agar-agar) en su pared celular.

La taxonomía de estas algas ha sido criticamente revisada en base a estudios morfoanatómicos y de ontogenia reproductiva, siendo en la actualidad muy importante la contribución de las técnicas de biología molecular para el esclarecimiento de la sistemática de estos taxa.

En el presente trabajo se realiza una comparación sobre la base de los perfiles de restricción del ADN cloroplastidial, en algas gracilarioideas de tres localidades de la costa oeste del Pacífico: Pigeon Point (USA), Ancón (Perú) y Dichato (Chile).

Las muestras frigorizadas fueron transportadas en el menor tiempo posible al laboratorio y procesadas inmediatamente. Los talos fueron molidos en frío (nitrógeno líquido) y digeridos en presencia de SDS y proteasa. Luego de desproteinizar se precipitaron los ácidos nucléicos con alcohol frío. El ADN cloroplastidial fue separado de proteinas, carbohidratos, ADN nuclear y ARN en una gradiente de Cloruro de Cesio y digeridos con enzimas de restricción.

Los fragmentos de restricción separados por electroforesis en geles de agarosa muestran diferencias en las tres poblaciones estudiadas, dos de ellas, USA y Perú adscritas a Gracilariopsis lemaneiformis y la tercera a Gracilaria chilensis. Una revisión más profunda puede permitir la individualización de las dos poblaciones adscritas a G. lemaneiformis.

Se destaca la necesidad e importancia de esta técnica en la solución de problemas taxónomicos cuando hay ausencia de estructuras reproductivas, como sucede en la población de Ancón (Perú).

TESIS DE POSTGRADO FINANCIADA POR LA RED LATINOAMERICANA DE BOTANICA Y EJECUTADA EN LOS DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y BOTANICA DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCION, CONCEPCION, CHILE.

Producción de ß-xilanasas extracelulares del hongo *Penicillium janthinellum 87 M-115).* (Production of extracellular ß-xylanases by P. janthinellum). Curotto, E. y Concha, M. Instituto de Química Universidad Católica de Valparaíso. (Patrocinio: G.Gónzalez).

Enzimas y hongos lignocelulósicos tienen una aplicación potencial en el tratamiento de las pulpas de madera y en el blanqueo de pulpas de celulosa. La factibilidad del uso de xilanasas en el biopulpaje, entre otros aspectos, es altamente dependiente de la selectividad de las enzimas y de la ausencia de actividad celulolítica. El objetivo de este trabajo es estudiar la producción de ß-xilanasas inducidas por diferentes xilanos, seleccionar las mejores condiciones de actividad endoxilanasa y mínima de celulasa para su posterior estudio de especificidad. Se utilizó, xilanos de abedul y alerce como inductores. La actividad xilanasa fue determinada a 60° C y 0.1 M tampón fosfato pH 6.0, midiendo cuerpos reductores con DNS a partir de 20 mg de xilano de alerce, como sustrato. Se estudió la producción de ß-xilanasa entre 10-100 mM de 2,2-dimetilsuccinato (DMS) pH entre 4,5-6.0. La mayor actividad se obtuvo al 5º dia (1.2 U.I.), 10 mM de tampón y pH 4.5, con xilano de alerce. No se producen proteasas. En DMS 50 mM y pH 4.5 ß-xilanasa fue inducida por xilano alerce y abedul presentando mayor actividad especifica en alerce que en abedul. La actividad celulasa fue mínima en todas las experiencias. Los perfiles electroforéticos son diferentes, lo que podría dar cuenta de menor multiplicidad enzimática cuando se induce con xilano de abedul. Es necesario purificar y caracterizar las xilanasas inducidas por los xilanos estudiados, para afirmar que son xilanasas con distinta especificidad.

CAMBIOS EN LA SINTESIS Y COMPOSICION DE GANGLIOSIDOS DURANTE EL DESARROLLO DEL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA DE POLLO. (Developmental changes in ganglioside composition and synthesis in pigment epithelium of the chick retina.) Daniotti, J.L.*, Landa, C.A. y Maccioni, H.J.F. Dpto. Química Biológica, Fac. Ciencias Químicas, U.N.Córdoba, Córdoba, Argentina. (Patrocinio: J.E. Allende.)

Durante el desarrollo del sistema ocular de pollo la pared del tubo neural da origen, por evaginación, a la vesícula optica. La posterior invaginación de ésta conduce a la formación de dos capas, una que diferencia en epitelio pigmentario (EP) y la otra en retina neural (RN). En RN las células precursoras (Retinoblastos, Rb) generan las distintas clases de neuronas retinales y las células gliales de Muller (CGM). Estudios de la expresión de gangliósidos durante el desarrollo han mostrado que los Rb expresan principalmente GD3. Cuando los Rb diferencian a células neuronales declinan la expresión de GD3 y expresan gangliósidos de la serie gangliotetraosilceramida (GTOC); cuando los Rb diferencian a CGM tambien expresan GTOC pero mantienen la expresión de GD3. Estos cambios correlacionan con la regulación de gangliósido glicosiltransferasas claves. En este trabajo, aplicando técnicas bioquímicas e inmunocitoquímicas, estudiamos la regulación de la expresión de gangliósidos y de glicosiltransferasas durante el desarrollo del EP. Los resultados muestran que: a) en estadíos tempranos las células precursoras de EP son GD3 y GM3 positivas; b) cuando las células que constituyen el EP diferencian, contienen predominantemente GM3; c) los cambios correlacionan con un alto valor en la relación GM3-/GD3- sintasa. Se concluye que las células precursoras del EP, al igual que los Rb, son $GD3^+$ pero al diferenciar expresan mayoritariamente el gangliósido GM3. El patrón de expresión de gangliósidos en EP, diferente al de CGM y neuronas ganglionares diferenciadas, indica que células derivadas de un progenitor común regulan la biosíntesis y expresión de gangliósidos según el entorno en el que ocurre la diferenciación terminal. (Apoyado por CONICET y CONICOR1)

*** Dirección actual: Depto. Bioquímica, Fac. Medicina, Univ. de Chile, Casilla 70086, Santiago 7.**

FLUORESCENCIA INTRÍNSECA DE LAS CARBOXIQUINASAS FOSFOENOLPIRUVICAS DE RATA Y Escherichia coli. (Intrinsic Fluorescence of rat and E.coli phosphoenolpyruvate carboxykinases). Encinas, M.V.[1], Rojas, M.C.[2], Cardemil, E.[1] y Goldie, H.[3]. Universidad de Chile[2], Universidad de Santiago de Chile[1] y, University of Saskatoon, Canadá[3].

La reacción de descarboxilación del oxaloacetato catalizada por las carboxiquinasas fosfoenolpirúvicas (PEPCKs), requiere de GTP o ATP según el origen de la enzima. En este trabajo se estudiaron las propiedades fluorescentes de los triptofanos de las PEPCKs de rata (GTP) y de Escherichia coli (ATP).
Los triptofanos de la enzima de rata, presentan un máximo de emisión a 335 nm, valor característico de residuos mas bien escondidos en la proteína. Los triptofanos de la enzima de E. coli presentan una emisión a mayor longitud de onda. La acrilamida resultó ser un efectivo apagador de la fluorescencia de ambas enzimas, cuyos triptofanos mostraron una accesibilidad similar a este apagador. En cambio, el desactivador iónico, NaI permitió detectar diferencias significativas entre las dos carboxiquinasas. La intensidad de la fluorescencia de la PEPCK de rata, disminuyó por unión de los nucleótidos. Además, estos sustratos redujieron la efectividad de la desactivación por acrilamida y yoduro. En la enzima de E.coli la adición de Mn^{++}, ATP o ADP aumentó la emisión fluorescente. Se calcularon las respectivas constantes de disociación para estos ligandos.

Financiamiento: Fondecyt proyectos 90-4 y 91-446, DTI Universidad de Chile, proyecto Q-3068-9013 y DICYT, Universidad de Santiago de Chile

FOTOTRANSFORMACIONES DE ISOMEROS DEL ß-CAROTENO, EFECTO DE LA CLOROFILA. (ß-carotene isomers phototransformations, chlorophyll effect). Erazo S. y O'Reilly S. Instituto de Química, Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas, Universidad Católica de Valparaíso.

Los ß-carotenos, constituyentes de alimentos que contribuyen a su color, presentan propiedades antioxidantes y otorgan beneficios potenciales a la salud humana. Actualmente, existe un creciente interés por incorporarlos como micro nutrientes en dietas humanas, debido al rol que presentarían en el control de algunas patologías. Sin embargo, los alimentos en las condiciones de procesamiento y almacenamiento sufren transformaciones, debido a envases transparentes a la luz y a la presencia de fotosensibilizadores. Estas reacciones pueden traer cambios indeseables en el color, aroma y valor nutritivo del producto.

En esta investigación se estudia la isomerización y fotooxidación de ß-carotenos extraídos de la microalga Dunaliella salina sometidos a la acción de la luz en presencia de clorofila. La composición y la proporción de la mezcla de isómeros del extracto se determina por HPLC en una columna RP-18 de 4µ (Merck).

En atmósfera inerte, se encuentra con luz policromática (Filtro Schott RG 630) transposición del isómero 9-cis-ß-caroteno a todo-trans-ß-caroteno a tiempos menores de 20 min y una pérdida no selectiva, a tiempos mayores. Pesek y col. al contrario, postulan en jugos de zanahoria sometidos a la luz, la transposición del todo-trans-ß-caroteno a isómeros cis. En condiciones aeróbicas, con luz policromática (>630 nm) y monocromática (450 nm) se observa destrucción no selectiva, a diferencia de lo señalado por Foote y col. quienes informan degradación preferente del isómero 9-cis-ß-caroteno. Estos resultados diferentes, probablemente debido a la presencia de fotosensibilizadores, hacen interesante a futuro un estudio cinético de estas fototransformaciones.

Se agradece la participación de la Dra G.Tapia D. Proyecto financiado por DGI, UCV.

RESPUESTA AL AYUNO DE PEROXISOMAS HEPATICOS Y RENALES
(Response to starvation of hepatic and renal peroxisomes)
Fuentes O.R. y Orellana M. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El ayuno agudo determina un aumento de la gluconeogénesis y de la utilización de lípidos por β-oxidación. El hígado y el riñón, los órganos con mayor abundancia de peroxisomas, son los únicos capaces de realigluconeogénesis y β-oxidación peroxisomal. Existe información contradictoria con respecto al efecto del ayuno sobre la β-oxidación peroxisomal hepática y renal. Asismismo no está bien establecido si el riñón juega un papel en el metabolismo energético durante el ayuno.

En este trabajo se estudió el efecto del ayuno por 24, 48 y 72 horas sobre la actividad de catalasa y la β-oxidación peroxisomal hepática y renal en ratas machos. Ambas actividades fueron determinadas por métodos espectrofotométricos en sobrenadantes 200g x 10 minutos de los homogenizados, previa solubilización con Tritón X-100.

Los resultados muestran que las actividades de catalasa y β-oxidación peroxisomal son respectivamente 3 y 3.5 veces mayor en hígado que en riñón de ratas controles. La β-oxidación peroxisomal que no se modifica a las 24 horas de ayuno, aumenta 30% a las 48 horas y se mantiene elevada después de 72 horas de ayuno. En forma similar la β-oxidación peroxisomal renal que muestra un leve aumento a las 24 horas de ayuno, sube un 71% a las 48 horas de ayuno y se mantiene elevada al cabo de 72 horas de ayuno. La actividad de la catalasa hepática no se modifica con el ayuno en tanto que la catalasa renal muestra un leve aumento desde las 48 horas de ayuno.

Esta respuesta es similar a la observada por otros autores frente a agentes hipolipidémicos. Se discute un posible rol del riñón en el metabolismo energético durante el ayuno.

Financiado por Proyecto DTI 3178/9013, U. de Chile.

CUERPOS DE INCLUSION DE POLIPEPTIDOS DE TUBULINA EN Escherichia coli (Inclusion Bodies of Tubulin Polypeptides in Escherichia coli). González, C., Lagos, R., Rabajille, E. y Monasterio, O. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La sobreproducción de trozos polipeptídicos de las subunidades alfa y beta de la tubulina en E. coli induce la formación de agregados insolubles, denominados cuerpos de inclusión (CI). Lo mismo se ha observado con otras proteínas sobreproducidas en bacterias. Como una forma de contribuir al conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la formación de los CI, se estudió el efecto del tamaño y la composición polipeptídica. Por subclonamiento se han obtenido 3 polipéptidos pertenecientes a la subunidad α y 4 a la subunidad ß de la tubulina, los que contienen el dominio carboxilo-terminal, solo o asociado con otros dominios de la proteína. El clon RL-3884, que contiene parte del dominio de interacción entre subunidades, se expresa insoluble (sobre 90%); mientras que el clon RL-6088, que carece totalmente de ese dominio, lo hace parcialmente soluble (sobre 37%). Por otra parte, parecen existir diferencias en la solubilidad de acuerdo con la subunidad a la cual pertenece el polipéptido expresado. Así, el clon RL-3386 (que contiene sólo el dominio carboxilo-terminal) se expresa soluble (sobre 97%), en tanto que el clon RL-52α3 es parcialmente soluble (50%). Los dos polipéptidos tienen peso molecular similar (6901 y 8279, respectivamente) y no contienen residuos de cisteína en su molécula. El análisis de los resultados indica que el tamaño de los polipéptidos, su composición o ambos influyen en la formación de los CI.

Financiado por proyectos: FONDECYT 92-0035; FONDECYT 1051-92 y Depto. Postgrado y Postitulo, Universidad de Chile, Beca PG-089-92.

PROTEOLISIS PARCIAL DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA (PEPCK) DE Saccharomyces cerevisiae. (PARTIAL PROTEOLYSIS OF Saccharomyces cerevisiae PHOSPHOENOLPYRUVATE CARBOXYKINASE).
Herrera,L., Jabalquinto,A.M. y Cardemil,E. Departamento de Quimica, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

La PEPCK de levadura cataliza la descarboxilación y fosforilación de oxaloacetato en presencia de ATP para generar fosfoenolpiruvato, ADP y CO_2. La enzima es un tetrámero con subunidades iguales de 61.3 kDa en esta especie, a diferencia de la de otros organismos.

Se realizó digestión parcial con diversas enzimas proteolíticas. y a diferentes tiempos de incubación se midió la actividad y se analizaron muestras en geles de poliacrilamida con 2% de SDS.

Los resultados indicaron que tripsina al 7% produce la fragmentación de la proteína generando especies de 57. 53 y 49 kDa, a la vez que disminuye la actividad de la PEPCK. Quimotripsina y proteasa de S.aureus V8 (7% y 10%, respectivamente) no tuvieron efecto. Los efectos provocados por tripsina fueron evitados casi totalmente por la inclusión de la mezcla de CO_2 y ADP o CO_2 y ATP en el medio de incubación, pero no así por los sustratos solos o por otras combinaciones de sustratos. La secuenciación del extremo aminoterminal del péptido de 57 kDa reveló que el punto de corte por tripsina corresponde a Arg-76. Otros expecimentos indicaron que la enzima proteolizada conserva parcialmente su estructura cuaternaria. Se postula que la ligazón de CO_2 y ADP o ATP a la PEPCK induce un cambio conformacional en la proteína. retirando a la Arg-76 de la superficie de la enzima.

Financiado por Fondecyt 91/0446 y DICYT-USACH.

EVALUACION DEL POTENCIAL CARCINOGENICO DE CONTAMINANTES DEL AIRE DE SANTIAGO. (Evaluation of the carcinogenic potential of environmental pollutants from Santiago).
Irarrázabal, C. y Salazar, I. Departamento de Bioquimica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La capacidad de un precarcinógeno para inducir la síntesis de P450-IA, tiene como consecuencia su propia activación, lo cual podría constituir el factor determinante de su potencia carcinogénica. Estudios **in vivo** de numerosos investigadores, han correlacionado el potencial carcinogénico de diversos compuestos químicos con su capacidad para inducir estas isoenzimas.

En el presente trabajo se estudió en núcleos de hígado de rata, la capacidad de diferentes mezclas de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP), presentes en extracto de partículas del aire de Santiago, para inhibir la síntesis de DNA y aumentar la actividad catalítica del Sistema Monooxigenasas para sustratos específicos de las isoenzimas IA. Esta capacidad se compararó con la de dos HAP puros: Benzopireno (BP) y 1-Nitropireno (NP).

Ratas Wistar, hembras de 35 días, recibieron una dosis i.p. (40mg/kg) de Extracto Orgánico de partículas del aire de Santiago, o de HAP, disuelto en aceite de maíz. Las ratas control recibieron el correspondiente volumen de aceite de maíz. Los animales fueron sacrificados 48 hrs post-tratamiento para aislar y purificar núcleos de hígado.

Los HAP puros y los Extractos Orgánicos (mezclas de HAP) estudiados, produjeron diferentes efectos tanto en el grado de inhibición de la síntesis de DNA (24 a 80%), como en el grado de aumento en las actividades aril hidrocarburo hidroxilasa (4 a 408%) y etoxiresorufina O-desetilasa (11 a 33%) dependientes de P450-IA, y en la actividad NADPH-P450 óxido-reductasa (2 a 73%).

Nuestros resultados indican que las mezclas de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos presentes en partículas contaminantes del aire de Santiago poseen un alto potencial carcinogénico, dado la relación directa entre el grado de aumento en las actividades del Sistema Monooxigenasas dependientes de las isoenzimas P450-IA y el grado de inhibición de la síntesis de DNA, producidos por el tratamiento con dichas mezclas de contaminantes.

Financiado por FONDECYT-1314-91.

AUSENCIA DE GRUPOS SULFHIDRILOS REACTIVOS EN LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE E. coli (E. coli phosphoenolpyruvate carboxykinase does not contain reactive sulfhydryl groups). Jabalquinto, A.M., *Goldie, H. y Cardemil, E. Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile y *Departamento de Microbiología, Universidad de Saskatchewan, Canada.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de E. coli es homóloga a la PEPCK (ATP) de levadura y no posee similitud con las PEPCKs dependientes de GTP. Como parte de una investigación dirigida a obtener información estructural de las PEPCKs dependientes de ATP, se estudia la reactividad de los residuos de cisteína de la enzima de E. coli.

Experimentos de titulación con DTNB en presencia de 8M urea indicaron la ausencia de puentes disulfuro en la enzima, en tanto que en condiciones no desnaturantes se titularon 2 grupos tioles por mol de enzima luego de 90 min de reacción, indicando una muy baja reactividad para los sulfhidrilos de la enzima nativa. Por otra parte, la enzima no fue inactivada por una serie de reactivos específicos para sulfhidrilos, los cuales variaban ampliamente en cuanto a tamaño y características polares.

Estos resultados nos indican que la PEPCK de E. coli, a diferencia de todas las PEPCKs estudiadas, no contiene grupos sulfhidrilos reactivos. Este es un hecho importante que pone en tela de juicio la posible función catalítica de los grupos sulfhidrilos altamente reactivos detectados en otras PEPCKs.

Financiado por Fondecyt 91/0446 y DICYT-USACH

¿ES LACTATO UN INTERMEDIARIO DE LA BIOSINTESIS DE GLICOGENO EN LOS OOCITOS DE RANA? (Is lactate an intermediate for the glycogen biosynthesis in frog oocytes?) Kessi, E., Guixe, V., Ureta, T. y H. W. Hofer. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Departamento Cs. Biol. Anim., Facultad de Cs. Vet y Pec., Universidad de Chile, y Fachbereich Biologie, Universität Konstanz.

En comunicaciones previas de este laboratorio se ha mostrado la aparición rápida (10 segundos) y transitoria de dos fracciones radiactivas (fracciones II y III) a partir de [^{14C}]glucosa micro-inyectada en oocitos de *Caudiverbera caudiverbera*. Para identificar estas fracciones, se microinyectaron oocitos con [^{14C}]glucosa, o con glucosa no radiactiva y se prepararon extractos perclóricos los cuales se cromatografiaron en Dowex 1X8. Las fracciones resultantes se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución en una columna CarboPac PA1 (DIONEX). Una de las fracciones radiactivas de interés se analizó por métodos enzimáticos que incluyen tratamientos con LDH-GPT y AST-MDH, seguidos de análisis cromatográfico en MonoQ o CarboPac PA1. Paralelamente, los extractos perclóricos obtenidos luego de microinyectar glucosa no radiactiva se analizaron por espectrometría de masas. La fracción radiactiva analizada contiene lactato y aspartato, lo cual es sorprendente en vista de las bajas actividades de fosfofructoquinasa y de fructosa-1,6-bisfosfatasa que estas células presentan.

Proyecto FONDECYT 91-0829
Fundación Volkswagen

CARACTERIZACION CINETICA Y FUNCIONAL DE LA ATP-DIFOSFOHIDROLASA DE PLACENTA HUMANA. (Kinetic and functional characterization of human placenta ATP-diphosphohydrolase). Kettlun, A.M., Valenzuela, M.A., Pieber, M., Alvarez, A., Chayet, L., Collados, L., Mancilla, M., Briones, A., Silva, M.A. y Traverso-Cori, A. Depto Bioquímica y Biología Molecular. Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas. Univ. de Chile.

La baja producción de PGI_2 (antiagregante plaquetario) de la placenta humana parece estar suplida por una actividad ADPásica que correspondería a la ATP-difosfohidrolasa, cuya presencia permitiría regular el proceso de agregación plaquetaria dependiente de ADP.

No hay diferencias en la distribución de la apirasa en los lados materno y fetal. La caracterización cinética mostró que: a) concentraciones elevadas de Ca^{2+} y Mg^{2+} son inhibitorias, lo que indica que se unirían también a la enzima; b) los residuos de *cis* y *trp* no son importantes en la catálisis, pero si se modifica *arg* e *his* se observa reversión del efecto inactivador con AMPcP; la nitración de tirosinas con TNM inactiva, pero no hay protección por AMPcP.

La relación de esta enzima con la agregación plaquetaria se encuentra apoyada por su efecto inhibidor *in vitro*. Esta importante función reguladora de la apirasa en placenta se corrobora por la presencia de proteínas, una activadora y otra inhibidora de su actividad. Estudios preliminares indican que la inhibidora sería particulada, en cambio la activadora es soluble.

Financiado por DTI 8334S-9213 y Fondecyt 90-1006.

HACIA LA MUTACION SITIO-ESPECIFICA DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA (PEPCK) DE Saccharomyces cerevisiae. (TOWARDS SITE-DIRECTED MUTAGENESIS OF Saccharomyces cerevisiae PHOSPHOENOLPYRUVATE CARBOXYKINASE). *[1]Krautwurst, H., [2]Kim, J., [2]Frey, P.A., y [2]Cardemil, E. [1]Departamento de Química, U. de Santiago de Chile, y [2]Institute for Enzyme Research, U. Wisconsin.*

Experimentos previos han indicado que las cisteínas 364 y 457 de la PEPCK de levadura se encontrarían en o cerca del sitio activo de la enzima. Con el objeto de validar esta conclusión, se diseñó una estrategia para lograr su reemplazo por residuos de serina.

El gen de la enzima fue clonado en el fago M13mp19 entre los sitios HindIII-EcoRI. Empleando la estrategia de Kunkel, se obtuvo el correspondiente U-DNA de una hebra, sobre el que se sintetizó in vitro la segunda hebra conteniendo ya sea separadamente o en forma conjunta los codones mutados. A partir de las placas de lisis correspondientes, se obtuvo DNA de una hebra y se secuenció completamente el inserto SalI-EcoRI que contiene los codones mutados. Se han identificado varios clones que contienen las mutaciones deseadas para efectuar los reemplazos Cis364/Ser y Cis457/Ser, pero todos los clones analizados del doble mutante presentan cambios no deseados. En forma sorpresiva, se detectó una diferencia con la secuencia publicada del gen, lo que podría significar un cambio en el marco de lectura del extremo 3'. Se trabaja en la expresión de los genes recombinantes y en la verificación de la secuencia del gen.

Financiado por proyectos Fondecyt 91/0446, DICYT-USACH y GM 30480.

AISLAMIENTO Y PROPIEDADES DE AGARASAS DE BACTERIAS MARINAS (Isolation and properties of agarases from marine bacteria). León, O., Peruzzo,G., Quintana, L. Urzúa, U. y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile.

Estruturalmente el agar ha sido definido como una familia de polímeros constituido por residuos de galactosa y 3,6 anhidrogalactosa, unidos por enlaces α-1,4 y β-1,4 en forma alternada.

El agar es hidrolizado enzimáticamente por bacterias provenientes de ambientes marinos. De acuerdo a su efecto degradativo, las bacterias agarolíticas pueden agruparse en: aquellas que producen depresiones alrededor de las colonias, junto con halos de aclaramiento del agar y, bacterias que producen orificios y licuefacción del agar.

En nuestro laboratorio hemos aislado dos cepas bacterianas que poseen una gran eficiencia en la hidrólisis de agar y que pertenecen al segundo grupo de bacterias descrito . En este trabajo se describen algunas propiedades de las agarasas presentes en una de estas cepas (B-1). En esta cepa la actividad agarásica es inducida por agar y las enzimas permanecen unidas a las células. Utilizando un procedimiento de extracción con tritón X-100, dos agarasas han sido separadas por cromatografía en TSK-DEAE. Ambas enzimas hidrolizan agar dando como producto final neoagarobiosa y requieren de sales para su actividad. Sin embargo, difieren en algunas propiedades como ser,en su perfil de actividad vs pH y su acción sobre agar no denaturado. Estudios recientes han mostrado que la mayor parte de la actividad agarásica se encuentra en la pared celular o en el espacio periplásmico, ya que puede ser liberada por tratamiento con EDTA y lisozima.

La caracterización de estas enzimas permitirá determinar su función en el proceso de agarolítico y establecer las posibles causas de su gran eficiencia.

(Financiado por: Proyecto FONDECYT 90-51 y DID-UACH S-90-2).

ESTUDIOS DE EPITOPES DE LA PORINA OMPC DE *SALMONELLA TYPHI* EXPUESTOS EN LA SUPERFICIE BACTERIANA. (Studies of surface-exposed epitopes of *Salmonella typhi* OmpC porin). Martínez, M.T., Hinrichsen, J.P., Vásquez, A. Gómez, I., Becker, M.I.* y Venegas, A. Laboratorio de Bioquímica. P. Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago. *Bios Chile IGSA. Bilbao 2034-A, Santiago.

Estudios previos han permitido clonar y secuenciar el gen *ompC* de *Salmonella typhi*. Con ello, se ha propuesto un modelo para el plegamiento de la estructura secundaria del monómero de OmpC en la membrana. Se postulan 3 segmentos polipeptídicos principales expuestos en la superficie bacteriana.

Para completar estos estudios se prepararon anticuerpos monoclonales contra trímeros de OmpC de *S. typhi*. Mediante ensayos ELISA se identificaron 3 monoclonales que reaccionaron contra trímeros de OmpC de *S. typhi* aislados de un clon de *E. coli* recombinante y contra células enteras de *S. typhi*. No hubo reacción contra monómeros de porinas de distintas bacterias, analizados por "Western blots" o "dot blots". Tampoco contra trímeros OmpC/OmpF aislados de *E. coli*, ni de otras bacterias.

Los 3 monoclonales se probaron contra bacterias enteras adsorbidas a un filtro de nitrocelulosa, en un ensayo "dot blot" simple. La reacción resultó especifica para *S. typhi* con dos de los anticuerpos, detectándose una muy débil reacción con *Salmonella paratyphi* A. El tercero no reaccionó con células intactas.

Estos resultados apoyan la idea de zonas expuestas no homólogas a las de *E. coli*. Al mismo tiempo, los monoclonales resultan muy apropiados para la identificación de *S. typhi*.

Financiado por proyecto FONDECYT 682-91.

ESTRUCTURA DE LA RIBONUCLEASA T1. ANALISIS DE LOS ENLACES PUENTE HIDROGENO Y ESTRUCTURA DEL SOLVENTE. (Structure of the Ribonuclease T1.Analysis of the hydrogen bonds and solvente structure) Martínez O., J.A. Departamento de Biología Molecular, Fac. Cs. Biol. Rec. Nat., Universidad de Concepción. (Patroc.:N. Carvajal)

La Ribonuclease T1 es una endoribonuclease con especificidad por los nucléotidos de Guanina. Su estructura fue resuelta a 1,5Å de resolución, por difracción de rayos-X.

El modelo incluye 798 átomos, 1 residuo en desorden, N98, 7 residuos en dos conformaciones, 1 ión Calcio y 120 moléculas de solvente.

Los átomos de hidrógeno fueron calculados e incluídos con el programa MOLEDT. Los puentes hidrógeno fueron calculados utilizando el programa ORTEP. Las interacciones entre las moléculas de solvente fueron calculadas con la subrutina CONTACT del programa FRODO. La estructura de la enzima, 104 residuos de aminoácidos, está estabilizada por 145 enlaces puente hidrógeno intracatenarios, entre los cuales hay un gran número de enlaces puente hidrógeno de tres centros, principalmente estabilizando las estructuras secundarias regulares. Se establecen, además, 213 enlaces puente hidrógeno con moléculas de solvente. Las 120 moléculas de solvente establecen 97 interacciones entre sí, generando mallas, redes o cadenas, que estabilizan las zonas no estructuradas de la molécula de proteína.

Financiamiento: Proyectos 91.31.41-1; 91.31.43-1 DIUdeC

CLONAMIENTO Y CARACTERIZACION DE DETERMINANTES DE ADHESIVIDAD E INVASIVIDAD DE Aeromonas sobria. (Cloning and characterization of invasion determinants of Aeromonas sobria) Meller, C., Soto, V., Hinrichsen, V., Carkicas, V., Figueroa, G., Yudelevich, A. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, U. Católica de Chile, e INTA Universidad de Chile.

La capacidad de algunas bacterias enteropatógenas de adherirse y luego invadir las células de la mucosa gastrointestinal es un elemento de virulencia importante en el proceso de infección.

Con el objeto de aislar y caracterizar los genes involucrados en invasividad estamos estudiando este proceso en Aeromonas spp. Para ello hemos construido en E.coli VCS257 y utilizando el cosmidio pHC79, un banco de genes de la cepa de origen clínico Aeromonas sobria 830, que es invasora y enterotoxigénica. Este banco ha sido utilizado para identificar clones de E.coli que han adquirido la capacidad de invadir "in vitro" cultivos de células Hep-2 en monocapa. Este análisis permitió identificar tres clones denominados pAS97, pAS65 y pAS810, que adquirieron la capacidad de invadir células Hep-2.

El análisis del ADN plasmidial de estos tres clones permitió distinguir en los insertos dos regiones distintas, cada una de las cuales confiere, en forma independiente, capacidad de invasión. Esto implica que al parecer existen en Aeromonas al menos dos sistemas independientes capaces de conferir invasividad.

El subclonamiento de fragmentos derivados del clon pAS97, realizados en los vectores pUC19 y pKK223-3, permitió establecer que las funciones de invasividad estan contenidas en un fragmento de aproximadamente 1500 pb.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 92/ 0099.

COMPORTAMIENTO DE HEPATOCITOS DE RATA SOMETIDOS A CAMBIOS EN EL APORTE DE OXIGENO (Rat hepatocytes behaviow under different oxygen contribution) Morgado, N., Campos, R., Sanhueza, J. y Valenzuela, A. Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos. INTA, U. de Chile.

La participación de formas activas del O_2 en el daño que se produce durante la isquemia-reperfusión es aceptada. Sin embargo, los mecanismos que generan dichas formas son un tema aún en discusión. Hepatocitos de rata fueron sometidos a cambios en el aporte de O2 (oxigenación-anoxia-reoxigenación) estudiando parámetros relacionados al estres que estos cambios producen: Glutation reducido (GSH) por su función citoprotectora, malondialdehido MDA, como producto terminal de lipoperoxidación celular, xantina dehidrogenasa-oxidasa (XDH-XO) como sistema generador de especies activas del O_2 y quimioluminiscencia espontanea para detectar dichas especies. La viabilidad celular se midio por exclusión de azul tripan y liberación de lactato deshidrogenasa (LDH) al medio extracelular.
Durante el período de oxigenación hay un aumento en los niveles de GSH y MDA. Al someter la preparación oxigenada a un período de anoxia los niveles de ambos permanecen constantes y al reoxigenarla hay una caida de GSH y aumento de MDA. Respecto a la formación de especies activas, hay un aumento neto en la quimioluminiscencia cuando se somete la suspensión al protocolo experimental. Los hepatocitos manifestaron la presencia de XO y ausencia de XDH. Sin embargo, en hígado completo o en tejido vascular hepático detectamos aproximadamente un 80% de actividad XDH lo que nos hace sugerir la existencia de una compartamentalización de la enzima. La actividad de LDH y la exclusión de azul tripan se mantuvieron constante, lo que nos permite descartar posibles efectos debido a muerte celular.
FINANCIADO POR FONDECYT 1194/90.

EFECTO DEL AYUNO SOBRE EL METABOLISMO MICROSOMAL DE ACIDO LAURICO EN HIGADO Y RIÑON. (Effect of fasting on lauric acid microsomal metabolism in liver and kidney) Orellana M., Rosenbluth, H. y Valdés E. Depto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

El sistema oxidativo microsomal es un complejo multienzimático cuya oxidasa terminal es el citocromo P-450 (cit. P-450). El cit. P-450 participa en el metabolismo de drogas y compuestos endógenos tales como ác. grasos, prostaglandinas y esteroides. Existen diversas isoenzimas cit. P-450 que catalizan la oxidación de ác. grasos en posición w y w-1. El rol de estas hidroxilaciones es actualmente motivo de controversia. Una de las hipótesis al respecto, sería la contribución del cit. P-450 al catabolismo lipídico. Se ha descrito que los ác. grasos w-hidroxilados por el sistema oxidativo microsomal, son posteriormente oxidados al ácido dicarboxílico correspondiente, sustrato de la β–oxidación peroxisomal.

Se estudió el efecto del ayuno sobre la oxidación de ác. láurico y la fluidez de la membrana microsomal en hígado y riñón. Con el objeto de verificar si la inducción del catabolismo lipídico afecta la actividad del cit. P-450, se utilizaron ratas en ayuno de 24, 48 y 72 hrs. Tanto en hígado como en riñón el metabolismo microsomal aumentó a las 24 hrs. de ayuno y el metabolito que se produjo en mayor proporción en ambos órganos fué el ácido w-hidroxi láurico. Sin embargo, la fluidez de la membrana microsomal no fué alterada.

Nuestros estudios apoyarían la hipótesis que el del cit. P-450 microsomal contribuiría al catabolismo lipídico. Además estos resultados sugieren que el ayuno aumentaría la actividad o contenido de las isoenzimas P-450 que hidroxilan ác. láurico tanto en hígado como en riñón.
Proyecto DTI 3178 de la Universidad de Chile.

EFECTO DE DIFERENTES INDUCTORES SOBRE LA VIA FENIL PROPANOIDE EN CALLOS DE *Citrus limon*. (Effect of different elicitors on the phenylpropanoid pathway in *Citrus limon* callus).
Prieto, H., Chiong, M. y Pérez, L.M. Facultad de Ciencias Qcas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Casilla 233, Santiago 1, Chile.

La infección fúngica en *Citrus limon* activa la vía fenilpropanoide produciendo fitoalexinas. Para estudiar los mecanismos de inducción de esta vía se establecieron callos de *C. limon* y se analizó la cinética de inducción de la PAL por distintos inductores.

Al tratar callos de hipocotilo con daño mecánico (DM) se obtuvo dos máximos de actividad de PAL, 8-10 horas y 18-20 horas post-inducción, siendo el primero el más importante. Cuando se utilizó luz UV sólo se observó el máximo de las 18-20 horas. Pectinasa aislada de *Alternaria alternata* indujo un máximo a las 4 horas y luego otro a las 14 horas. En callos de albedo se observó un comportamiento diferente. DM indujo un máximo a las 48 horas el que se repitió cuando se utilizó DM + luz UV.

Estos resultados indican que el mecanismo de inducción de la PAL es tejido específico y depende del inductor que lo estimula. También sugiere la participación de más de un mecanismo transductor de la señal intracelular y la probable existencia de varios genes para una misma enzima.

Financiado por FONDECYT 90-0066 y PG 009-92 U. Chile (M. Chiong) y FONDECYT 91-0886 (L.M. Pérez).

INDUCCION DE PAL Y PEROXIDASA EN PLANTULAS DE *Citrus limon* COMO RESPUESTA A HERIDAS. (Induction of PAL and peroxidase in *Citrus limon* seedlings in response to wounding).
Roco, A., Castañeda, P.*, Chiong, M., Pérez, L. M. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile. * UMCE.

La síntesis de lignina requiere de precursores formados a través de la vía fenilpropanoide (alcoholes sinapílico, p-cumarílico y coniferílico) y de la presencia de peroxidasas para su polimerización. La lignina forma una barrera física que dificulta infecciones por patógenos y facilita la cicatrización de heridas producidas en la superficie del tejido vegetal por agentes de diversa índole (insectos, patógenos, etc.). Por lo tanto, se espera que una planta herida induzca en forma paralela a la vía fenilpropanoide y a las peroxidasas.

El presente trabajo evalúa la activación de la vía fenilpropanoide a través de la inducción de PAL, la acumulación de precursores de lignina, la inducción de peroxidasas y depósito de lignina.

Plántulas de *Citrus limon* dañadas mecánicamente inducen a la PAL a las 8 horas, produciendo un aumento de polifenoles a las 12 horas. La activación de peroxidasas se produjo a las 15 horas obteniéndose depósitos de lignina con posterioridad.

Los datos permiten proponer una secuencia de eventos en la respuesta del tejido vegetal a daño mecánico.
Financiado por FONDECYT 90-0066 y PG 009-92 U. Chile (M. Chiong) y FONDECYT 91-0886 (L.M. Pérez).

CLONAMIENTO, EXPRESION Y PURIFICACION DE UN PEPTIDO CARBOXILO-TERMINAL DE LA SUBUNIDAD α DE TUBULINA HUMANA. (Cloning, expression and purification of a carboxy-terminal peptide from human tubulin α subunit). Sánchez, R., Lagos, R., Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La tubulina, un heterodímero con subunidades denominadas α y ß, es el componente principal de los microtúbulos. Aunque la estructura a baja resolución de los microtúbulos ha sido determinada, la estructura tridimensional de la tubulina es desconocida. Nuestro objetivo general es determinar la estructura de fragmentos (dominios o módulos) y sus interacciones funcionales. Cierta evidencia ha sugerido que los sitios de unión de alta afinidad para Ca^{2+}, inhibidor de la polimerización de tubulina, se encontrarían en la región carboxilo terminal. Para precisar el lugar de unión de Ca^{2+} se clonó un péptido correspondiente a 64 aminoácidos del extremo carboxilo-terminal de la subunidad α y se expresó en Escherichia coli. El péptido seguido por la radiactividad de ^{35}[S]-Met, se encontró tanto en la fracción soluble como en el precipitado del lisado celular después de centrifugar a 27000 g x 15'. El péptido se purificó y caracterizó por cromatografía de filtración en gel e intercambio iónico a partir del precipitado solubilizado con Guanidina-HCl 6M. El peso molecular del péptido fue de 9700 determinado por SDS-PAGE y filtración en gel. Los resultados indican que el péptido copurifica con una proteína de igual peso molecular y similar carga. La tinción de este péptido con respecto a uno similar de la subunidad ß, en geles SDS-PAGE con el colorante "Stains All", que identifica proteínas con capacidad de unir Ca^{2+}, mostró que el péptido de la subunidad ß sería capaz de unir Ca^{2+}, no así el péptido de la subunidad α.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1051-92

ACIDO FOLICO Y DERIVADOS POLIGLUTAMILADOS INHIBEN A LA CASEINA QUINASA II DE *Xenopus laevis*. (Folic acid and polyglutamylated derivatives inhibit casein kinase II from *Xenopus laevis*.) Téllez, R., Connelly, C. y Allende, J.E. Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina y Depto. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La caseína quinasa II es una proteína quinasa de células eucarióticas que fosforila serinas o treoninas presentes en una secuencia de aminoácidos ácidos. Es inhibida por moléculas polianiónicas (heparina, ácidos nucleicos, ácidos poliglutámicos y poliaspárticos). Recientemente se demostró que la presencia del anillo fenólico de la tirosina en copolímeros con ácido glutámico incrementa notablemente la capacidad inhibidora de estas moléculas. En este trabajo se muestra el efecto inhibidor del ácido fólico y análogos poliglutamilados (unión peptídica que involucra los grupos γ-carboxílicos) sobre la caseínaquinasa II de *Xenopus laevis*. Se observa que la capacidad inhibidora de los derivados pteroil, 4-amino-N-10-metil-pteroil (anillo aromático del metotrexato) y p-amino-benzoil, es mayor al aumentar el número de residuos de ácido glutámico, de 2 a 7. También tiene importancia la naturaleza del grupo aromático en la capacidad inhibidora, pues el ácido-hexa-γ-glutámico no muestra efecto inhibidor y a la vez se observa que los derivados folil-hexa-γ-glutamilados son inhibidores con una potencia relativa en la siguiente secuencia: metotrexato > pteroil > ácido-p-amino-benzoico. La inhibición que ejercen estos compuestos es de tipo competitivo. El derivado de metotrexato con 6 residuos de ácido glutámico tiene un Ki aparente de 90 μM y el ácido-p-aminobenzoil-tri-γ-glutámico tiene un Ki de 1,7 mM.

Apoyado por FONDECYT y The Council for Tobacco Research.

EFECTO DEL ATP SOBRE LA ESTRUCTURA MOLECULAR DE Grp78.(ATP effect on the Grp78 molecular structure). Toledo,H., Carlino,A., Brot,N., and Weissbach,H. Department of Gene Regulation, Roche Institute of Molecular Biology, USA.

La proteína que une la cadena pesada de la inmunoglobulina (Grp78/BiP) es una proteína del retículo endoplásmico que pertenece a la familia de las proteinas de shock térmico de peso molecular 70.000 y participa en el plegamiento de algunas de las proteínas que transitan por el organelo. Para comprender mejor la función biológica de esta proteína, el gen de Grp78 obtenido de hígado de hamster se expresó en *Escherichia coli* como una proteína fusionada con la glutation S-transferasa. La Grp78 recombinante se purificó a homogeneidad.
La proteína recombinante mostró una actividad ATPásica débil y se autofosforiló en presencia de Ca^{2+}, como ocurre con la Grp78 de hígado de bovino. La Grp78 recombinante mostró una sola de las 4 isoformas que presenta la proteína de hígado de bovino. Ambas proteínas existen principalmente como monómeros y dímeros, siendo este último convertido a la forma monomérica en presencia de ATP.
Es posible que el dímero sea la forma activa en la unión de las proteínas que presentan errores en el plegamiento, ya que in vivo esta forma es abundante.

CONSECUENCIAS METABOLICAS DE FOSFOFRUCTOQUINASAS CON PROPIEDADES CINETICAS DIFERENTES EN E. coli. (Metabolic consequences of phosphofructokinases with different kinetic properties in E. coli). Torres, J.C. y Babul, J. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En E. coli se han descrito dos isoenzimas de fosfofructoquinasa con propiedades cinéticas diferentes (Pfk-1 y Pfk-2). Cepas con sólo una de ellas crecen a una misma velocidad en fuentes de carbono glicolíticas y gluconeogénicas. En cambio cepas con una variante mutacional de Pfk-2, insensible a inhibición por Mg-ATP, crecen muy lentamente en fuentes de carbono gluconeogénicas. ¿Por qué?

Hemos desarrollado un modelo cinético in vitro que, aplicado a las fosfofructoquinasas y fructosa-bisfosfatasa purificadas de E. coli, sugiere que en determinadas condiciones la Pfk-2 mutada produciría niveles importantes de ciclo de sustrato en condiciones "gluconeogénicas". Esto podría explicar el crecimiento lento.

También hemos desarrollado un modelo de simulación computacional de flujo en una red glicolítica-gluconeogénica simplificada, que permite hacer predicciones sobre el destino de masa y marca radioactiva asociada a carbonos específicos de glucosa o glicerol. Este modelo se usó para efectuar predicciones cualitativas sobre el efecto de distintas tasas de ciclo de sustrato a nivel de la fosfofructoquinasa sobre intermediarios y productos finales. Para evaluar las predicciones del modelo hemos estudiado el destino de carbonos radioactivos de glucosa y glicerol en intermediarios y en productos finales. Los resultados sustentan la hipótesis de un mayor ciclo de sustratos en la cepas que tienen Pfk-2 mutada. (Proyectos FONDECYT 1120/89, 0027/90 y 1136/92).

"Purificación y caracterización de tres DNA polimerasas de la forma proliferativa epimastigote de T. cruzi. (Purification and characterization of three DNA polymerases from T. cruzi epi mastigotes proliferative forms).

Venegas, J., Salas, J. y Solari, A.

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Con el objeto de establecer el grado de homología funcional y estructural que existe entre las DNA polimerasas de T. cruzi y las DNA polimerasas del huesped humano se procedió a realizar la purificación y caracterización de las DNA polimerasas de la forma proliferativa epimastigote de T. cruzi. Estudios iniciales permitieron aislar y caracterizar parcialmente dos DNA polimerasas, cuyas características fueron diferentes a las descritas ampliamente en eucariotes superiores. El nuevo enfoque mostrado en esta comunicación, el cual consiste en esquemas de purificación y uso de inhibidores de proteasas más eficaces, permitió lograr una extensiva purificación de tres DNA polimerasas. Analisis mediante centrifugación en gradientes de glicerol y electroforésis en geles de poliacrilamida en condiciones denaturantes mostraron que estas DNA polimerasas poseen distintos pesos moleculares. A su vez, estas enzimas presentaron diferente especificidad por sustratos y sensibilidad a inhibidores.

El conjunto de estos resultados sugiere que estas fracciones enzimáticas corresponden a tres tipos distintos de DNA polimerasas presente en la forma proliferativa epimastigote de T. cruzi.

Financiado por DTI (Departamento Técnico de Investigación, Universidad de Chile).

EFECTO DE ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO SOBRE ALBUMINA HUMANA. (Reactive oxygen species effect on human serum albumin). Weber, M., Frese, G., Arroyo, J., Tapia, G., y González, G. Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso.

El estrés oxidativo en células y tejidos se produce por un aumento en la generación de especies reactivas de oxígeno y/o por una disminución en las defensas antioxidantes. Un tipo de moléculas afectadas por este estrés son las proteínas. Se escogió a la albúmina humana para evaluar el efecto de los radicales anión superóxido e hidroxilo sobre su estructura y función. Los cambios estructurales se detectaron por fluorescencia, por la susceptibilidad proteolítica a la subtilisina y por fragmentación y/o agregación de la cadena polipeptídica. Los cambios en la función se midieron en base a su capacidad de unir el ligando 2-(4'-hidroxiazobenceno) benzoato (HABA), que puede determinarse colorimetricamente. La unión del ligando se midió por ultrafiltración. La generación de los radicales se efectuó por radiólisis del agua en presencia de O_2. Los resultados muestran que los radicales producen destrucción del triptofano, formación de enlaces bitirosina, aumento de la susceptibilidad a la proteólisis y fragmentación de la cadena polipeptídica. La unión del ligando HABA es dependiente de la concentración de radicales presentes.

Financiamiento de DGIP, UCV, y asistencia de la Comisión Chilena de Energía Nuclear.

FORMACION DE CANALES IONICOS EN BICAPAS LIPIDICAS POR LA MICROCINA E492 de KLEBSIELLA PNEUMONIAE. (Microcin E492 acts by forming ionic channels in phospholipid bilayer membranes). Wilkens, M.*, Vergara, C., Monasterio, O. y Lagos, R. Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las bacteriocinas (colicinas y microcinas) son agentes antimicrobianos de naturaleza proteica excretadas por enterobacterias y que actúan sobre bacterias de la misma especie o especies relacionadas. El grupo de las microcinas está constituido por polipéptidos de bajo peso molecular (inferior a 10.000) que presentan termoresistencia, señsibilidad a algunas proteasas y solubilidad en metanol.

La microcina E492 (MccE492) de Klebsiella pneumoniae marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC) mostró un peso molecular de 8.000 determinado en geles en gradiente de poliacrilamida-urea-SDS y fue visualizada por medio de la emisión de fluorescencia del FITC. La estabilidad de la actividad bactericida de la microcina en medios acuosos fue mayor a pH 4,6, y no fue afectada por la fuerza iónica entre 0,5 y 1,0 M. Se ha postulado que la acción bactericida de la microcina ocurriría a través de la despolarización de la membrana de la bacteria sensible. Para explicar esta acción hemos postulado que la microcina formaría canales iónicos. Experimentos electrofisiológicos mostraron que la microcina forma canales iónicos de naturaleza catiónica y dependientes de voltaje en bicapas lipídicas. La conductancia de estos canales fue de 90 pS, observándose saturación a potenciales extremos.

Financiado por proyectos FONDECYT 1203-90, FONDECYT 0005-92 y por el Depto. de Postgrado y Postítulo, U. de Chile, beca PG-107-92.
*Depto. de Química, Facultad de Ciencia, U. de Santiago

INDICE DE AUTORES / AUTHORS INDEX

Adonis, M. 18
Allende, J.E. 15, 25
Alvarez, A. 22
Alvear, M. 18
Arroyo, J. 26

Babul, J. 17, 25
Barros, L. 14
Becker, M.I. 23
Brandan, E. 19
Briones, A. 22
Brot, N. 25
Bruce, E. 15
Brunet, J.E. 14
Burzio, L. 13

Cachicas, V. 23
Campos, A. 19
Campos, R. 24
Cárcamo, J.G. 15
Cardemil, E. 14, 18, 20, 21, 22
Carlino, A. 25
Castañeda, P. 24
Carvajal, N. 14, 19
Chayet, L. 19, 22
Chiong, M. 24
Collados, L. 19, 22
Concha, M. 20
Connelly, C. 15, 25
Córdova, C. 19
Curotto, E. 20

Daniotti, J.L. 20

Encinas, M.V. 14, 18, 20
Erazo, S. 20
Eyzaguirre, J. 16

Figueroa, G. 23
Foradori, A.C. 17
Frese, G. 26
Frey, P.A. 22
Fuentes, O.R. 21

García, L. 19
Gatica, M. 15
Gil, L. 18
Goldie, H. 20, 22
Gómez, I. 15, 23
González, C. 14, 21
González, G. 26
González, M. 19
Guixé, V. 22

Herrera, L. 18, 21
Hinrichs, M.V. 15
Hinrichsen, J.P. 23
Hinrichsen, V. 23
Hofer, H.W. 22

Irarrázabal, C. 21

Jabalquinto, A.M. 14, 21, 22
Jedlicki, A.M. 15
Jedlicki, E. 15

Kessi, E. 22
Kettlun, A.M. 19, 22
Kim, J. 22
Krauskopf, M. 17
Krautwurst, H. 22

Lagos, R. 14, 21, 25, 26
Landa, C.A. 20
León, O. 15, 23
Ludwig, H. 15

Maccioni, H.J.F. 20
Mancilla, M. 19, 22
Martínez, M.T. 15, 23
Martínez, O.J.A. 23
Mellado, G. 15
Meller,.C. 23
Monasterio, O. 14, 21, 25, 26
Montoya, R. 19
Morgado, N. 24

Orellana, M. 21, 24
Orellana, O. 15
O'Reilly, S. 20

Pérez, L.M. 24
Peruzzo, G. 23
Pieber, M. 22
Prieto, H. 24

Quintana, L. 23
Quiñones, L. 18

Rabajille, E. 21
Reyes, A. 15
Roco, A. 24
Rojas, M.C. 14, 20
Rosenbluth, H. 24

Sáez, D. 15
Sagredo, B. 15
Salas, J. 26
Salazar, I. 21
Salazar, O. 15
Sánchez, R. 14, 25

Sanhueza, J. 24
Silva, M.A. 22
Slebe, J.C. 15, 23
Solari, A. 26
Soto, C. 14, 18
Soto, V. 23

Tapia, G. 26
Tejada, N. 19
Téllez, R. 25
Toledo, H. 25
Torrejón, M. 15
Torres, C. 19
Torres, J.C. 25
Traverso-Cori, A. 19, 22

Ureta, T. 16, 22
Urra, S. 15
Urrea, R. 19
Urzúa, U. 23

Valdés, E. 24
Valenzuela, A. 24
Valenzuela, M.A. 19, 22
Vargas, D. 15
Vásquez, A. 23
Vella, F. 16
Venegas, A. 15, 23
Venegas, J. 26
Vergara, C. 26
Vignolo, P. 18

Weber, M. 26
Weissbach, H. 25
Wilkens, M. 26

Yudelevich, A. 23

Alfabeta Impresores

SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

XXXV REUNION ANUAL

SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE
y SOCIEDADES AFILIADAS

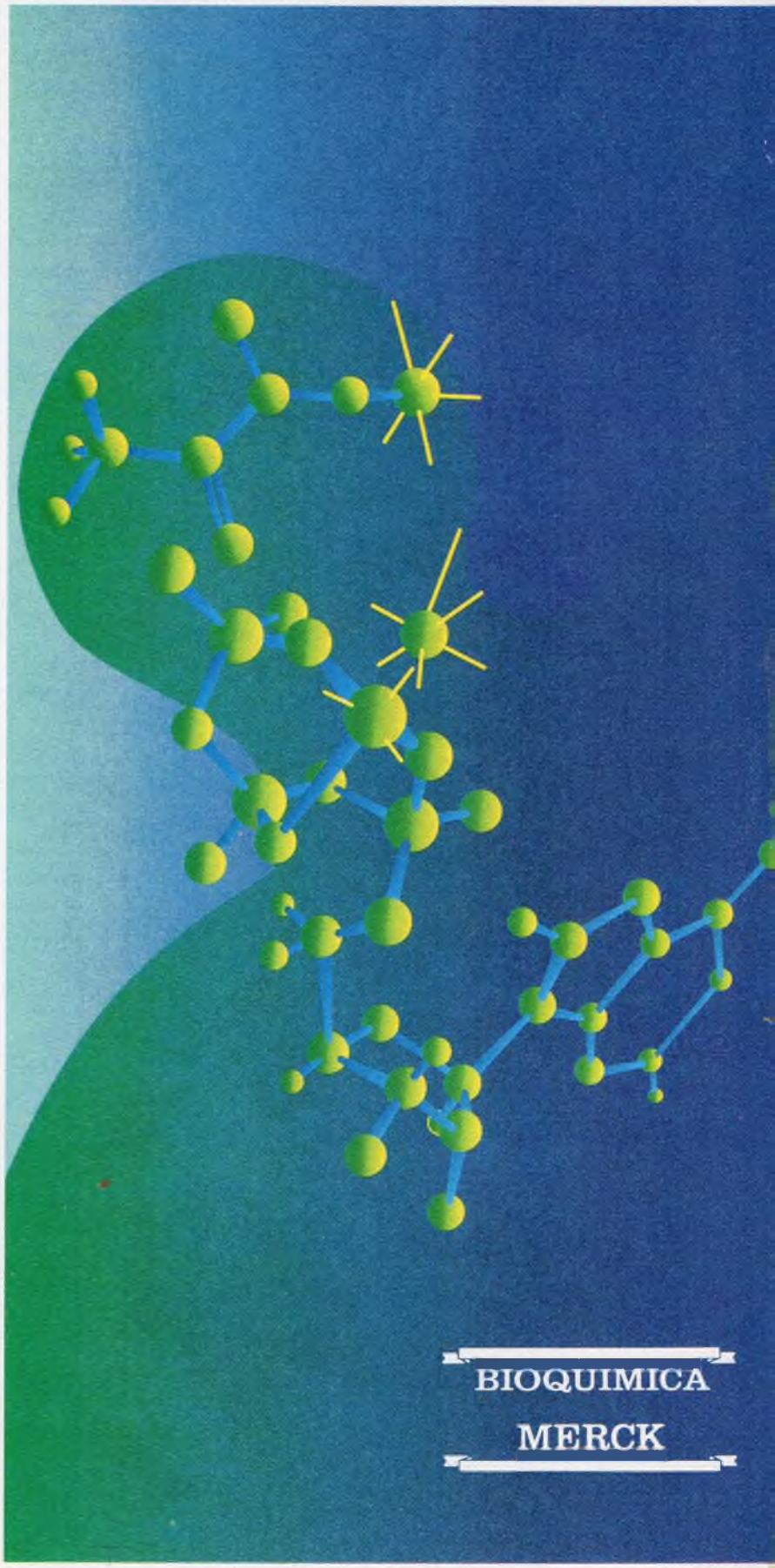
Sociedad Chilena de Biología de la Reproducción y Desarrollo
Sociedad de Biología Celular de Chile
Sociedad de Bioquímica de Chile
Sociedad de Botánica de Chile
Sociedad de Ciencias Fisiológicas
Sociedad de Farmacología de Chile
Sociedad de Genética de Chile

RESUMENES DE
CONFERENCIAS, SIMPOSIOS Y COMUNICACIONES

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

25 - 28 de noviembre de 1991
Puyehue, Chile

Bioquímica,
Enzimología,
Electroforesis,
Acidos nucleicos,
Proteínas...



...todos los
reactivos para
su laboratorio

MERCK Quimica Chilena Soc. Ltda.
Francisco de Paula Taforó 1981
Santiago de Chile
Tel. 2381160, Telex 440197, Fax 00562-2383527

SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

XXXV REUNION ANUAL

Programa

FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA
Recibido 16 AGO 1993

25 - 28 de noviembre de 1992
Puyehue, Chile

ESTE CONGRESO HA SIDO POSIBLE GRACIAS A LA GENEROSA CONTRIBUCION DE LAS SIGUIENTES INSTITUCIONES:

CONICYT
FUNDACION CHILENA PARA LA BIOLOGIA CELULAR
IVENS & CIA. LTDA.
MERCK QUIMICA CHILENA
OFICINA NACIONAL DE RETORNO
ORGANIZACION INTERNACIONAL PARA LAS MIGRACIONES
PARRAGUEZ - BENEZET LTDA.
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
UNIVERSIDAD DE CHILE

DIRECTORIO DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE
1992

Presidente:	Dr. ESTEBAN M. RODRIGUEZ
Vicepresidente:	Dr. CLAUDIO BARROS
Presidente Anterior:	Dr. JORGE BABUL
Secretario:	Dr. LUIS VALLADARES
Tesorera:	Dra. M. SOLEDAD SEPULVEDA
Director	Dr. JUAN BACIGALUPO
Director	Dr. GONZALO BUSTOS

PRESIDENTES SECCIONES:

Sección Biofísica:	Dr. ENRIQUE JAIMOVICH
Sección Ecología:	Dr. CARLOS MORENO
Sección Zoología:	Dr. JUAN CARLOS ORTIZ

PRESIDENTES SOCIEDADES AFILIADAS:

Sociedad de Biología Celular de Chile:	Dr. ENRIQUE BRANDAN
Sociedad de Bioquímica de Chile:	Dr. OCTAVIO MONASTERIO
Sociedad de Botánica de Chile:	Dra. LILIANA CARDEMIL
Sociedad de Farmacología de Chile:	Dr. SERGIO LECANELLIER
Sociedad de Genética de Chile:	Dr. DANIEL FRIAS
Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas:	Dr. JORGE BELMAR
Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo:	Dr. LUIS VALLADARES

PROGRAMA

35a. REUNION ANUAL

MIERCOLES 25 DE NOVIEMBRE

09.00 - 12.30 Inscripciones

13.00 Almuerzo

14.30 - 17.00 **INCORPORACIONES** **SALA 1**

Mesa: Dr. **Gonzalo Bustos**
Dr. **Luis Corcuera**

Acevedo, C.G. (Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción). Receptores A1 y A2 de adenosina (ADO) en la vejiga: papel modulador de ADO en la neurotransmisión no adrenérgica no colinérgica (NANC). (Patrocinio: J.P. Huidobro).

Ginocchio, R.; Montenegro, G. (Departamento de Ecología , Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Organización estructural de las yemas de renuevo y su implicancia en la sobrevivencia de vastagos embrionarios. (Patrocinio: G. Montenegro).

Grez, A.A. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Concentración de recursos: efecto del tamaño del parche sobre la densidad y diversidad de insectos herbivoros. (Patrocinio: J. Armesto).

Contreras, M.; Vila, I. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Desplazamientos diarios de Odontesthes bonariensis (Valenciennes) en el embalse Rapel (Pisces: Atherinidae). (Patrocinio: I. Vila).

Bitrán, M. (Unidad de Regulación Neurohumoral, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). El efecto inhibitorio del neuropeptido Y (NPY) sobre la neurotransmisión del conducto deferente (CD) es modulado por la edad y el estado hormonal de la rata. (Patrocinio: J.P. Huidobro).

17.00 Café

17.00 Inauguración Exposición Firmas Comerciales

ACTIVIDADES CIENTIFICAS DE LAS SECCIONES DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA Y DE LAS SOCIEDADES AFILIADAS

17.30 -20.00 Sección Ecología **SALA 1**

SIMPOSIO: Cambio Global y sus consecuencias

Coordinador: Dra. **Doris Soto**

Fuenzalida, H. (Departamento de Geofísica, Universidad de Chile). Programa internacional de estudio del cambio global.

Arroyo, Mary T. Kalin; Armesto, J. (Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Cambio Global: ¿Cuál será el destino de los bosques templados de Sudamerica?.

Moreno, C. (Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile).

Soto, D. (Instituto de Pesquerías y Oceanografía, Universidad Austral de Chile). Potenciales respuestas a cambios locales y globales de lagos oligotróficos del sur de Chile y de algunos mecanismos que mediarían las mismas.

Galloway, D.(The Natural History Museum, USA). Lichens as indicators of global change: a Chilean perspective.

17.30 - 20.00 Sección Biofísica-Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas: **SALA 2**

SIMPOSIO: Señales intracelulares de calcio y su regulación.

Coordinador: Dr. **Enrique Jaimovich**

O'Neill, S.C.; Donoso, P.; Eisner, D. (Department of Veterinary Preclinical Sciences, U. of Liverpool; Departamento de Fisiología y Biofísica, Universidad de Chile). The role of the sarcoplasmic reticulum as a source and sink of calcium in mammalian cardiac muscle.

Rojas, E.; Carroll, P.;Atwater, I. (Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Laboratory of Cell Biology and Genetics, National Institutes of Health, Bethesda, U.S.A.) Control por glucosa, agonistas colinergicos y adrenergicos del Ca2+, en células beta del pancreas humano.

Molgó, J.; Simahara, T.F.; Comella, J.X.; Legrand, A.M. (Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, Centre National de la Recherche Scientifique, France and Institut Territorial de Recherches Médicales Louis Malardé, Papeete, Tahiti.) Ciguatoxin-induced sodium-dependent calcium mobilization in motor nerve terminals and in neuronal cells.

Jaimovich, E.; Hidalgo, J.; Rojas, E. (Departamento de Fisiología , Facultad de Medicina, Universidad de Chile y C.E.C.S., Santiago-Chile y Laboratory of Cell Biology and Genetics, National Institutes of Health, Bethesda, USA.) Señales transitorias de calcio en músculo esquelético en cultivo.

17.30 - 20.00 Sociedad de Bioquímica de Chile **SALA 3**

SIMPOSIO: Técnicas de Biotecnología para la detección de contaminantes ambientales.

Coordinador: Dr.**Lionel Gil**

Cotoras, D. (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Remoción de iones metálicos mediante bacterias.

Gibson, G.G. (Molecular Toxicology Research Group, School of Biological Sciences, University of Surrey, Guilford, Surrey, England.) Biochemistry and molecular biology of peroxisome proliferation .

Gil. L. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.) Utilización de técnicas biotecnológicas en la detección de agentes potencialmente mutagénicos y carcinogénicos en el aire de Santiago.

Holmes, D.;Dubey, S.;Gangolli, S. (Department of Biology , Clarkson University, Potsdam, N.Y. USA.) Biosensores construidos mediante ingeniería genética para el monitoreo del ambiente, análisis de alimentos y aplicaciones en salud.

17.30 - 18.30 Sección Zoología: **SALA 4**

CONFERENCIA: Dr. **Tim Berra** (E.E.U.U.)
Life History of the Salamanderfish (Lepedogalaxias Salamandroides) From western Australian: Fishing with a shovel and a firetruck

18.45 - 19.45 Sociedad de Farmacología y Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas. **SALA 4**

CONFERENCIA: Dr. **Daniel Le Bars** (INSERM-francia)
Mecanismos neurofisiológicos de control de la información nociseptiva: avances y perspectivas.

20.00 - 22.30 **TALLER A.** Neurociencias (cena de trabajo)

Coordinador: Dr. **E.M. Rodríguez**

TALLER B. Biología Molecular (cena de trabajo)

Coordinador: Dr. **A. Venegas**

21.30 Cena

JUEVES 26 DE NOVIEMBRE

SIMPOSIO FUNDACION CHILENA PARA LA BIOLOGIA CELULAR

09.00 - 11:30 **SIMPOSIO:** **SALA 1**

TRANSDUCTORES DE SEÑALES

Coordinadores: Dra. **Cecilia Hidalgo**
Dra. **Paulina Bull**

Bravo, R. (Department of Molecular Biology, Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute, Princeton, N,J. USA.) Oncoproteinas como factores reguladores de la transcripción.

Irvine, R.F. (AFRC Institute of Animal Physiology and Genetic Research, Babraham, Cambridge, U.K.). Control of Ca2+ entry by inositol phosphates .

Bronfman, M. (Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Proteína quinasa C y transducción de señales; modulación por tioésteres del coenzimo A.

Olate, J. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Transducciones de señales a través de proteínas G: análisis molecular.

09.00 - 11.30 **SIMPOSIO:** **SALA 2**

DEL TROPICO A LA ANTARTICA. ECOLOGIA Y FUNCION DE PLANTAS EN ECOSISTEMAS EXTREMOS

Coordinadores: Dra. **Gloria Montenegro**
Dra. **Miren Alberdi**

Montenegro, G.;Alberdi, M. (Departamento de Ecología , Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile e Instituto de Botánica,Universidad Austral de Chile). Del tropico a la Antartica. Ecología y función de plantas en ecosistemas extremos.

Medina, E. (Centro de Ecología, I.V.I.C, Caracas). Fotosíntesis, osmolalidad y eficiencia de uso de aguas de especies de manglar en ambientes de salinidad contrastante.

Kappen, L. (Institut für Polarökologie und Botanisches Institut, Universität Kiel, Deutschland.). Ecofisiología de líquenes antarticos.

Rundel, P.W.(Laboratory of Biomedical and Environmental Sciences, Department of Biology, University of California, Los Angeles).
Fitogeografía y respuestas al stress de plantas en el desierto de Atacama del norte de Chile.

Armesto, J.J.;Smith-Ramirez, C.;Sabag, C. (Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Relaciones mutualistas, gremios y estructura comunitaria en el bosque de Chiloé.

12.00 - 13.00 **CONFERENCIA:** **SALA 1**

Dr. **Víctor Ramirez** (E.E.U.U.)
Propiedades biológicas y químicas de una nueva proteína liberadora de dopamina (DARP) de origen adrenal y cerebral.

12.00 - 13.00 **CONFERENCIA:** **SALA 2**

Dr. **Francisco Bertini** (Argentina)
Aspectos biológicos y moleculares del trypanosoma cruzi. Un desafío en la lucha contra el mal de Chagas

13.00 Almuerzo.

14.30 - 17.00 **SIMPOSIO:** **SALA 1**

Factores de crecimiento: biorreguladores de la función celular.
Coordinadores: Dr. **Mario Sapag-Hagar**
Dr. **Sergio Lavandero.**

Lara, H.E. (Lab. de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Factores de crecimiento neuronal (NGF) y regulación de la función ovárica. Aspectos bioquímicos y moleculares.

González, A.;Faúndez, V.;Salazar, G.;Manzano, M.; Garrido, J.;Calderón, F.(Departamento de Inmunología y Reumatología, Facultad de Medicina y Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Receptor del factor de crecimineto epidérmico en cerebro y sistema gástrico.

Lavandero, S.;Sapag-Hagar, M.;Foncea, R.;Tapia, V.;Piddo, A.M.;Cartagena, G.; Ebensperger, R. (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Factores de crecimiento en el desarrollo y función del tejido mamario.

Sapag-Hagar, M. (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile). Los factores de crecimiento: una visión integrativa fisiológico-molecular.

Bravo, R.;Dobrzanski, P.;Carrasco, D.;Kovary, K.; Ryseck, R.P. (Department of Molecular Biology, Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute, Princeton, USA). Expresión de factores de transcripción durante la inducción de la proliferación celular.

Oka, T.(Laboratory of Molecular an Cellular Biology, NIDDK, National Institutes of Health). The role of EGF receptor in regulation of liver regeneration.

14.30 - 17.00 **SIMPOSIO:** **SALA 2**

COOPERACION CIENTIFICA CHILENO-ARGENTINA.

Coordinador Chileno: Dr. **Claudio Barros**
Dr. **Eduardo Bustos**
Coordinador Argentino: Dr. **Ramón Piezzi**

Participantes:

Krauskopf, M. (Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile). Publicaciones en ciencia en Chile y cooperación internacional.

Etcheverry, J. (Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Buenos Aires, Argentina). Acerca de la conveniencia de objetivar las capacidades científicas.

Barros, C. (Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Cooperación científica Chile-Argentina. Estado actual e intenciones de cooperación.

Piezzi, R. (Instituto de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina). Cooperación científica Argentina-chile. Estado actual e intenciones de cooperación.

d'Etigny, E. (Presidente de CONICYT, Chile). Perspectivas de cooperación científica entre Chile y Argentina

Dellacha, J. (Subsecretario de Ciencias y Tecnología, República Argentina). Perspectivas de cooperación científica entre Argentina y Chile

17.00 Café.

17.30 - 18.30 **CONFERENCIA:** **SALA 1**

Dr. R.A. Harris (E.E.U.U.)
Neurofarmacología de los receptores para Gaba A: Insinuaciones de la biología molecular.

17.30 - 18.30 **CONFERENCIA** **SALA 2**

Dr. Luis Burzio (Chile)
Presencia de RNA en el espermatozoide.

19.00 - 20.00 **CONFERENCIA PLENARIA:** **SALA 1**

Alfred Welljams-Dorof (Institute for Scientific Information, Philadelphia, USA).
Life sciences research in Chile: A current citationist perspective

21.00 Cena

23.00 Fiesta

VIERNES 27 DE NOVIEMBRE

09.00 - 10.30 **PANELES I**

Nota: Los Paneles tienen la misma nuneración que los resúmenes publicados en este cuaderno.

FISIOLOGIA I: **PANELES 1 AL 12**
Coordinador: Dr. **Renato Albertini**

NEUROBIOLOGIA I: **PANELES 13 AL 31**
Coordinador: Dr. **Roberto Yulis**

BIOLOGIA CELULAR I: **PANELES 32 AL 44**
Coordinador:Dr. **Nibaldo Inestrosa**

REPRODUCCION I: **PANELES 45 AL 70**
Coordinador: Dr. **Horacio Croxatto**

BIOQUIMICA I: **PANELES 71 AL 82**
Coordinador: Dr. **Octavio Monasterio**

MICROBIOLOGIA: **PANELES 83 AL 89**
Coordinador: Dr. **Carlos Jerez**

BIOFISICA I: **PANELES 90 AL 102**
Coordinador: Dr. **Enrique Jaimovich**

FARMACOLOGIA I: **PANELES 103 AL 111**
Coordinador : Dr. **Jorge Belmar**

INMUNOLOGIA I: **PANELES 112 AL 118**
Coordinador: Dra. **Maria Inés Becker**

BIOLOGIA-MOLECULAR I: **PANELES 119 AL 130**
Coordinador: Dr. **Catherine Connelly**

GENETICA I: **PANELES 131 AL 135**
Coordinador: Dr. **Sergio Cabrera**

BOTANICA I: **PANELES 136 AL 147**
Coordinador: Dra. **Liliana Cardemil**

ZOOLOGIA-ECOLOGIA I: **PANELES 148 AL 165**
Coordinador: **Fabián Jaksic**

10.30 - 13.00 **SIMPOSIO:** **SALA 1**

Regulación de la actividad neuronal

Coordinadores: Dr. **Fernando Torrealba**
Dr. **Juan Bacigalupo**

Andrade, R. (Departamento de Farmacología y Fisiología, St. Louis University School of Medicine, USA). Efectos electrofisiológicos de la serotonina sobre las neuronas del hipocampo: un modelo para la regulación de canales por receptores acoplados a proteinas G en el cerebro.

Bacigalupo, J. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Fisiología de fotorreceptores de invertebrados: una vision molecular.

Labarca, P.;Bacigalupo, J.;Delgado, R.;Morales, B.;Jorquera, O. (Centro de Estudios Científicos de Santiago y Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Fisiología de la neurona olfatoria de vertebrados.

Malenka, R.C. (Department of Psychiatry & Physiology, University of California, San Francisco, USA). Mechanisms underlying synaptic plasticity in the hippocampus.

10:30 - 13:00 **SIMPOSIO:** **SALA 2**
Biotecnología Marina

Coordinador: Dra. **Edith Hevia**

Martial, J.A.;Swennen, D.;Rentier-Delrue, F.;Poncelet, A.C.;Sekkali, B.;Brim, H., Belajew, A. (Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génie Génetique, Université de Liége, Sarttilman, Belgique). Análisis molecular de prolactinas y hormona de crecimiento de Tilapia.

Boeuf, G. (IFREMER Centre de Brest, Plouzane, France). Control endocrino de la esmoltificación en los salmonideos: aspectos fundamentales y aplicados.

Becker, M.I.; De Ioannes, A.E. (Bios Chile, I.G.S.A., Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Desarrollo de inmunoensayos para diagnosticar el sindrome del salmon coho.

Burzio, L. (Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.) La estrategia adhesiva de moluscos bivalvos.

13.00 Almuerzo.

14.30 - 16.00 **DISCUSION PANELES I**

Paneles : 1-31 , 45-70, 103-111 **SALA 1**
Coordinador: **Dr. Claudio Barros**

Paneles: 32-44, 71-82, 90-102, 119-130 **SALA 2**
Coordinador: **Dra. Maria A. Valenzuela**

Paneles: 136-165 **SALA 3**
Coordinador: **Dra. Miren Alberdi**

Paneles: 83-89, 112-118, 131-135 **SALA 4**
Coordinador: **Dr. Sergio Cabrera**

16.00 Café.

16.30 - 19.00 **SIMPOSIO:** **SALA 1**

Diversidad en los mecanismos de regulación de la expresión génica.
Coordinador: Dr. **A. Venegas**

Araya, A.;Hernould, M.; Suharsonno, S.; Begu, D.;Mouras, A.;Litvak, S. (Department of Replication and Expression of Eucaryotic and Retroviral Genomes, France.) Editing de mRNA mitocondrial de plantas y esterilidad macho citoplásmica.

Escobedo, J.A.;Fantl, W.J.;Williams, L.T. (Cardiovascular Research Institute, University of California, San Francisco, USA) Mecanismo molecular mediante el cual el receptor de PDGF transmite su señal mitogénica.

Selby, M.J.;Ghosh, S.;Peterlin, B.M. (Chiron Corporation and the Howard Hughes Medical Institute, University of California, San Francisco, USA). Transactivation of the HIV-1 LTR.

Peña-Cortes, H.; Willmitzer, I. (Institut für Genbiologische Forchung, Berlín, Alemania). Regulación de la expresión génica inducida por herida en plantas.

16.30 - 19.00 **SIMPOSIO:** **SALA 2**

Bases Biológicas en la Comunicación Celular
Coordinador: Dr. **J.P. Huidobro Toro**

Iturriaga, R. (Laboratorio de Neurobiología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, P. Universidad Católica de Chile). Quimiorrecepción carotidea del O2 y CO2.

Huidobro-Toro, J.P. (Unidad de Regulación Neurohumoral, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, P. Universidad Católica de Chile). Comunicación celular, adaptación al medio externo y la regulación del medio interno.

Harris, R.A. (Department of Pharmacology, University of Colorado School of Medicine, Denver, USA). Estructura y función de los canales ionicos activados por ligandos.

19.15 - 20.15 **CONFERENCIA:** **SALA 1**

Dr. **R.F. Irvine** (Inglaterra)
The control and function of the neclear inositide cycle

19.15 - 20.15 **CONFERENCIA:** **SALA 2**

Dra. **Mery Willson** (E.E.U.U.)
Sexual selection in plants.

20.30 Cena.

22.00 **CEREMONIA OFICIAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA.**

* Ver programa adjunto **SALA 1**

SABADO 28 DE NOVIEMBRE

09.00 - 10.30 **PANELES II**

Nota: Los Paneles tienen la misma numeración que los resúmenes publicados en este cuaderno.

ZOOLOGIA-ECOLOGIA II: **PANELES 166 AL 180**
Coordinador: Dr. **Javier Simonetti**

BOTANICA II: **PANELES 181 AL 212**
Coordinador: Dr. **Juan Armesto**

NEUROBIOLOGIA II: **PANELES 213 AL 232**
Coordinador: Dr. **Juan Bacigalupo**

FISIOLOGIA II: **PANELES 233 AL 243**
Coordinador: Dr. **Manuel Oyarzún**

BIOFISICA II: **PANELES 244 AL 253**
Coordinador: Dr. **Mario Luxoro**

REPRODUCCION II: **PANELES 254 AL 271**
Coordinador: Dra. **Rosita Smith**

BIOLOGIA CELULAR II: **PANELES 272 AL 285**
Coordinador: Dra. **Miryam Santos**

BIOQUIMICA II: **PANELES 286 AL 296**
Coordinador: Dra. **Luz María Pérez**

FARMACOLOGIA II: **PANELES 297 AL 304**
Coordinador: Dr. Gonzalo Bustos

BIOLOGIA MOLECULAR II: **PANELES 305 AL 316**
Coordinador: Dr. Manuel Krauskopf

GENETICA II: **PANELES 317 AL 323**
Coordinador: Dr. Manuel Santos

BIOTECNOLOGIA: **PANELES 324 AL 326**

INMUNOLOGIA II: **PANELES 327 AL 333**
Coordinador: Dra. María Ines Becker

10.30 - 11:30 **CONFERENCIA PLENARIA:** **SALA 1**

Dr. **Carlos George-Nascimento** (E.E.U.U.)
El ser o no ser de proteínas recombinantes.

11.30 - 13.00 **Discusión Paneles II**

Paneles: 213-243, 254-271, 297-304 **SALA 1**
Coordinador: Dr. **Fernando Torrealba**

Paneles: 166-212 **SALA 2**
Coordinador: Dra. **Gloria Montenegro**

Paneles: 244-253, 272-296, 305-316 **SALA 3**
Coordinador: Dr. **Mario Sapag-Hagar**

Paneles: 317 - 333 **SALA 4**
Coordinador: Dr. **Manuel Santos**

Conferencias

PROPIEDADES BIOLOGICAS Y QUIMICAS DE UNA NUEVA PROTEINA LIBERADORA DE DOPAMINA (DARP) DE ORIGEN ADRENAL Y CEREBRAL (Biological and Chemical Properties of a novel Dopamine releasing Protein (DARP) from Adrenal and Brain origen). V. D. Ramirez, University of Illinois, Department of Physiology, Urbana, Il. 61801, USA.

Transplantes de médula adrenal y sustancia nigra son parcialmente efectivos en el tratamiento de algunos pacientes con enfermedad de Parkinson. Sin embargo, el mecanismos de acción de estos transplantes es desconocido. Nuestro grupo publicó en 1988 la presencia en extractos de adrenal de rata o del cerebro de una proteína capaz de liberar dopamina de fragmentos del cuerpo estriado o de la médula adrenal (Chang and Ramirez, Brain Research 463:385,1988). El DARP, parcialmente purificado, libera dopamina del cuerpo estriado in vitro como también in vivo. La liberación de dopamina in vitro es dependiente de Ca y la respuesta se satura a concentraciones aparentemente nanomolares. La producción de anticuerpos monoclonales contra esta proteina (Ramirez et al., Cell.Mol.Neurosc. 2:410, 1991) permitió su purificación , por inmunoafinidad y la estimación de una peso molecular de aproximadamente 200 kDa mediante PAGE y Western Blott. Ademas, estos anticuerpos han permitido estudiar su localización en la suprarenal y cerebro de rata usando immunocitoquímica. La importancia fisiológica del DARP ha sido demostrada por potentes efectos del anticuerpo en los niveles de las catecolaminas cerebrales en ratas durante diferentes fases del desarrollo fetal, infantil o adulto y por su acción en cultivos primarios de células mesencefálicas de origen embrionario de rata. Por último, datos de su sequencia de amino-ácidos indican que el DARP es una nueva proteina diferente de factores neurotróficos conocidos.

NEUROFARMACOLOGIA DE LOS RECEPTORES PARA $GABA_A$: INSINUACIONES DE LA BIOLOGIA MOLECULAR. (Neuropharmacology of $GABA_A$ Receptors: Insights From Molecular Biology). Harris, R.A., Dept. Pharmacology, Univ. Colorado Sch. Medicine, Denver, CO, 80262, USA.

GABA es el neurotransmisor inhibitorio más importante en el cerebro de los animales; muchas de sus acciones dependen de los receptores $GABA_A$. Interacciones de GABA con estos receptores abren los canales de cloruro, que por lo regular hiperpolarizan las neuronas y reduce su capacidad de excitación. Las acciones de GABA son incrementadas por muchos sedativos y anestésicos como las benzodiacepinas, el alcohol, los barbitúricos y los anestésicos generales. Los receptores $GABA_A$ pueden formarse con subunidades alfa, beta, gamma y delta. Existen seis distintos tipos de subunidades alfa, tres tipos de beta y cuatro de gamma permitiendo una gran diversidad de receptores en varias regiones del cerebro y en tipos de células. La importancia de la estructura de los receptores se puede estudiar por medio de la expresión de distintos cDNA codificados de subunidades específicas en oocitos Xenopus o en cultivos celulares. Estos estudios demuestran que la composición de las subunidades determinan la sensibilidad a drogas de los distintos $GABA_A$ receptores. Por ejemplo, GABA liga las subunidades beta y los benzodiacepinas liga las subunidades alfa, pero la subunidad gamma es necesaria para las acciones de las benzodiacepinas. En contraste, los anestésicos generales son más efectivos en receptores que no tienen subunidades gama, proporcionando una base molecular para el uso combinado de midazolam y halotam en anestesia. Dosis bajas de etanol requieren una subunidad específica (gamma2L) en combinación con subunidades alfa y beta para su acción. Esto, aparentemente, depende en la fosforilización de un amino ácido serina específico en el círculo intracelular de la subunidad gamma2L que es para la acción del etanol. En conclusión, la biología molecular ha revelado que la estructura y la función de los receptores $GABA_A$ es más compleja que lo anteriormente se imaginaba, resultando en una regulación farmacológica de estos receptores que es fascinantemente complicado.

ASPECTOS BIOLOGICOS Y MOLECULARES DEL TRYPANOSOMA CRUZI. UN DESAFIO EN LA LUCHA CONTRA EL MAL DE CHAGAS. (Biological and molecular aspects of T. cruzi. A challenging problem in the control of Chagas´desease). F.Bertini. Instituto de Histología y Embriología, Facultad de C. Médicas, Univ.Nac.de Cuyo, Casilla 56, Mendoza, Argentina.

Distintas estrategias se han empleado para erradicar o prevenir el mal de Chagas amén del control de reservorios y vectores. Los enfoques a nivel molecular envuelven el conocimiento íntimo de la constitución antigénica del parásito. El interés parece centrarse en la constitución antigénica del plasmalemma. Obtener una vacuna preventiva efectiva es problemático debido a la cambiante constitución el parásito, a su capacidad de eludir mecanismos de defensa del huesped, y a fenómenos autoinmunitario en éste último.

En esta breve revisión comunicaremos nuestros resultados preliminares (en colaboración o colaborando con el personal de la Cat. de Microbiología de la UBA, B. Aires) sobre tres lineas de estudio: A) la interferencia de la metaciclogénesis in vitro por hexosas que nos indica la presencia, en un extracto de intestino de vinchuca, de una glicoproteina rica en manosa que estimularía la diferenciación del parásito. B) Un fenómeno de liberación de Ca++ al citoplasma en el momento de la estimulación con el extracto. C) Una tentativa de obtener inmunoprotección contra infección aguda por T. cruzi utilizando como antígeno un extracto de intestino de vinchuca (T.infestans).

Parte de estos enfoque fueron sugeridos por el proceso de maduración del espermatozoide en el epidídimo cuando la célula adquiere proteinas secretada por ese órgano.

PRESENCIA DE RNA EN EL ESPERMATOZOIDE. Luis O. Burzio, I.I. Concha, A.M. Zárraga, M.Brito, A. Yáñez, P.Zamora, R. Schroeder, F. Delgado, J. Villegas, P. Figueroa, A.M. Meneses y E. Werner. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

Existen numerosas evidencias que muestran que la contribución del oocito y del espermatozoide son fundamentales para un desarrollo embrionario normal y a término. La contribución del espermatozoide ha sido atribuida tanto a "factores" como al "imprinting" diferencial del genoma del gameto durante espermatogénesis.

Nuestro laboratorio ha demostrado que el espermatozoide de varias especies contiene un complejo conjunto de RNAs. Mediante técnicas de biología molecular, hibridación *in situ* y uso de anticuerpos, hemos identificado los snRNAs U1, U2, U3, U4, U5, y U6, y las proteínas asociadas a ellos. Esto sugiere que el gameto aporta al huevo los componentes necesarios para el procesamiento de transcritos primarios. También hemos demostrado la presencia de RNA poliA+ en el espermio de rata y ratón. Uno de ellos corresponde al mRNA "corto" de pro-opiomelanocortina (POMC). Además, hemos seleccionado, de una biblioteca de cDNA, clones aparentemente específicos del gameto. Estos resultados nos permiten postular como hipótesis de trabajo, que el espermatozoide transporta al oocito durante la fertilización, una gama de RNAs entre los cuales existiría RNA informacional. Este material constituiría en parte la contribución paterna al desarrolo embrionario. (DID-UACH; FONDECYT 063-90; Stiftung Volkswagenwerk, Alemania)

LIFE SCIENCES RESEARCH IN CHILE: A CURRENT CITATIONIST PERSPECTIVE. Alfred Welljams-Dorof, Institute for Scientific Information. Philadelphia, USA.

A scientometric analysis of life sciences research from Chile will be presented, including molecular an cell biology, genetics, biochemistry and biophysics, immunology, and the neurosciences. Based on ISI's Science Indicators File covering the period 1981-1992, longitudinal data will be presented on output (number of papers) and impact (average citations per paper) in these disciplines. These data will be compared with other South American nations. Specific research specialties in which Chilean authors showed the greatest improvement and decline will also be reviewed. In addition, current 1990 research specialties in which Chilean authors are active and even dominant in terms of proportionate share of total papers will be identified. Finally, the highest impact papers from Chile that were published and cited during 1981-1992 will be presented.

THE CONTROL AND FUNCTION OF THE NUCLEAR INOSITIDE CYCLE. R.F. Irvine AFRC Institute of Animal Physiology and Genetics Research, Babraham, Cambridge CB2 4AT, U.K.

The polyphosphoinositide cycle in the plasma membrane is now a well-established part of receptor-coupled cell signalling. Recently, however, we have obtained evidence that there is another cycle, with similar biochemistry, but different mechanism of control, contained within the nucleus. This nuclear inositide cycle can be modulated by cell surface receptors, and its activation generates diacylglycerol with a concomitant translocation of protein kinase C to the nucleus. The way in which this cycle is controlled, and the consequences of its activation (i.e. the possible consequences of nuclear protein kinase C activation) are now the crucial questions to be explored and discussed.

SEXUAL SELECTION IN PLANTS. Willson, M. F., Forestry Sciences Laboratory, 2770 Sherwood Lane, Juneau, AK 99801 (USA)

Darwin examined sexual dimorphism in animals, arguing that sexual selection was important in the evolution of such dimorphism. Sexual dimorphism in plants may have parallel causes and costs.

The processes that contribute to sexual dimorphism may also lead to speciation and morphological differences among related species, as argued originally by Darwin. Where sexes are separate and dimorphism is well-developed, males of related animal species (both vertebrate and invertebrate) are often strikingly different from each other, while females may be virtually indistinguishable. A similar pattern may exist in plants: it is frequently the males (of dioecious taxa) or the male portions of the flower (in co-sexual flowers) that apparently have diversified. I suggest that the similarity of pattern may be accounted for by a similarity of process.

In addition, sexual selection may have contributed to certain evolutionary trends within the angiosperms and, indeed, to angiosperm radiation.

EL SER O NO SER DE PROTEINAS RECOMBINANTES. (Recombinant proteins: to be or not to be). George-Nascimento, C. Protein Chemistry, Chiron Corporation, Emeryville, California, EE.UU.

La producción y caracterización de una proteína recombinante de importancia biológica exige completar ciertas etapas fundamentales, sin contar con la comercialización final del producto. Por ejemplo: 1) Identificación y estudio preliminar de la proteína, seguida de clonamiento. Purificación en pequeña escala y ensayo biológico/farmacológico; 2) Manufacturación a gran escala y ensayo de identificación con el producto original; 3) Presentación de estudios a entidades reguladoras del sistema de salud. Control de calidad/validación de los procesos y ensayos a ser usados. Adecuada documentación y control del proceso de manufacturación. Analizaremos estas etapas con dos ejemplos: PDGF (Platelet Derived Growth Factor) y EGF (Epidermal Growth Factor). Si bien estas proteínas son de origen humano, su expresión en levadura hace mandatorio reconocer su completa identidad con el producto natural. El PDGF sintetizado en levadura es glicosilado con residuos de manosa, y presenta una ruptura proteolítica entre los residuos 32-33; el EGF está oxidado en su única metionina formando Met-sulfóxido, presenta un procesamiento C-terminal, y uno de sus residuos de aspartato sufre una isomerización no enzimática. ¿Existe una similitud entre las modificaciones observadas en proteínas recombinantes y naturales? Estudiaremos éstas y otras modificaciones producidas después de la traducción de estos polipéptidos, y su significado en la formulación y estabilidad de estas proteínas.

CONFERENCIA

Sociedad de Farmacología de Chile - Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas

NEUROBIOLOGIA DE LOS RECEPTORES DE LA MELATONINA.
Dubocovich, M.L. Department of Pharmacology, Northwestern Univ. Med. Sch., Chicago, IL., 60611, USA.

En esta presentación describiré la distribución, características farmacológicas y funciones de los receptores de la melatonina en el sistema nervioso central. La melatonina es segregada por la glándula pineal y la retina siguiendo un ritmo circadiano, alcanzando los niveles más altos durante la noche. La melatonina ejerce sus efectos a través de la estimulación de receptores específicos, habiéndose descrito dos sitios de binding para el ligando 2-[^{125}I]-iodomelatonina en tejidos del sistema nervioso central: ML-1 y ML-2. Los receptores ML-1 muestran alta afinidad por la 2-[^{125}I]-iodomelatonina y han sido localizados en áreas discretas del cerebro (núcleo supraquiasmático, núcleo paraventricular talámico) y la zona neural de la retina. La activación de receptores del tipo ML-1 por concentraciones picomolares de melatonina inhiben la liberación de dopamina en preparaciones de retinas de conejo, efecto que es bloqueado por el luzindole, un antagonista de los receptores de melatonina. La activación del receptor del tipo ML-1 inhibe la adenilato ciclasa a través de una proteína Gi. La regulación de la liberación de dopamina por melatonina en la retina juega un papel importante en la transmisión de la información fotoperiódica al cerebro. Finalmente, discutiré el papel de la activación de los receptores de melatonina en núcleos hipotalámicos, en la sincronización de ritmos circadianos en aves, reptiles y mamíferos, y en la regulación de la reproducción de animales fotoperiódicos.

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

Simposios

Sociedad de Biología de Chile. Sección Ecología

"CAMBIO GLOBAL Y SUS CONSECUENCIAS"

Coordinador: Dra. Doris Soto

PROGRAMA INTERNACIONAL DE ESTUDIO DEL CAMBIO GLOBAL. (International Geosphere-Biosphere Program: Global Change). Fuenzalida, H. Departamento de Geofísica, Universidad de Chile. (Patrocinio: D. Soto)

Se presenta una breve historia del Programa Internacional de la Geosfera-Biosfera: Cambio Global (IGBP) del Consejo Internacional de Uniones Científicas (ICSU), mencionándose sus orígenes, oportunidad y alcances. Se describe someramente la organización nacional del programa y las dificultades que presenta su implementación en el país.

En relación al futuro del IGBP en Chile se comentan las acciones que parece conveniente implementar y su estado actual. Luego se hace un recuento de iniciativas bilaterales y regionales que se están realizando junto a otras que buscan financiamiento.

Finalmente, se resume el estado actual de las técnicas disponibles para estimar escenarios climáticos en una Tierra con efecto invernadero intensificado y se caracteriza su estructura espacial temporal. Se presentan algunos resultados del comportamiento de series climáticas nacionales en relación a tales estructuras. Se plantea el problema de detección del cambio climático por efecto invernadero frente a las variaciones naturales y otros factores de origen antrópico.

CAMBIO GLOBAL: ¿CUAL SERA EL DESTINO DE LOS BOSQUES TEMPLADOS DE SUDAMERICA? (Global Change: How will the temperate forests of southern South America fare?). Arroyo, Mary T. Kalin y J. J. Armesto, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

Cambio Global (CG) se refiere a la destrucción indiscriminada de habitats, cambios en la composición de la atmósfera determinados por emisiones industriales y destrucción de vegetación, y los cambios climáticos resultantes de estos procesos. El CG se distingue de cambios "naturales" en la geobiosfera principalmente por su rapidez e impredictibilidad. Aunque existen diferencias de opinión en cuanto a la magnitud del aumento de temperatura en el futuro inmediato, los GCMS (General Circulation Models) concuerdan en que el hemisferio del sur, con una mayor superficie oceánica, sería menos afectado que el hemisferio del norte.

Las principales opciones de las plantas terrestres para responder al cambio climático son adaptación "in situ", y migración hacia sitios que reunen las condiciones adecuadas para su desarrollo. Especies arboreas como longevas Fitzroya cupressoides y Araucaria araucana serían especialmente sensibles al CG por su baja capacidad para adaptación "in situ". En los bosques templados de Sudamérica, muchas especies dependen de agentes bióticos para la polinización y dispersión de propagalos. Desfasamientos en las tasas de respuesta de los polinizadores y plantas esperables por adaptación in "situ" o migración, constituirían otro obstáculo para las respuestas de especies vegetales al CG.

El destino de nuestros bosques, por otra parte, dependería de los actuales patrones de distribución latitudinal y altitudinal, y especialmente de la cantidad de variación genética presente en las poblaciones periféricas. Existen especies ampliamente distribuidas y especies con distribuciones muy restringidas. Algunos de los obstáculos evidentes para migración y/o adaptación "in situ" en las especies xenogamas, longevas, polinizadas bioticamente pueden ser compensados en parte por su estructura poblacional y amplia distribución geográfica.

MacArthur Fdn. 90-9929; WWF-AID-7506; FONDECYT 92-1135

POTENCIALES RESPUESTAS A CAMBIOS LOCALES Y GLOBALES DE LAGOS OLIGOTROFICOS DEL SUR DE CHILE Y ALGUNOS MECANISMOS QUE MEDIARIAN LAS MISMAS. (Southern Chile oligotrophic lakes responses to local and global changes and mechanisms which may regulate them). Soto, D. Instituto de Pesquerías y Oceanografía, Universidad Austral de Chile, Campus Puerto Montt.

Se analizan potenciales impactos del cambio global en una serie de lagos (38-52°S) y se los compara con ambientes acuáticos del hemisferio Norte, particularmente de la costa Pacifica. Se percibe como uno de los cambios globales mas importantes para estos ambientes un acelerado proceso de eutroficacion, siendo este provocado principalmente por cambios en el uso de los suelos y modificacion del paisaje asi como por deposicion atmosferica de nutrientes. Por otro lado un aumento de temperatura tiene efectos menos predecibles en nuestros lagos y potencialmente seran comparativamente mas retardados. En los lagos estudiados se ha observado cierta resiliencia en la respuesta de variables como clorofila al aumento de nutrientes. En cambio los lagos de British Columbia respondenderian mas rapido a la adicion de nutrientes. Se postula que el tipo de bosque que rodea a los ambientes oligotroficos Chilenos (con baja proporcion de coniferas) les otorga comparativamente un mejor buffer a ciertas perturbaciones. Pero, a la vez estos ambientes serian mucho mas sensibles a la perdida de especies y a la modificacion del paisaje que lagos del hemisferio norte.

SIMPOSIO
Sección de Biofísica
"SEÑALES INTRACELULARES DE CALCIO Y SU REGULACION"
Coordinador: Dr. Enrique Jaimovich

THE ROLE OF THE SARCOPLASMIC RETICULUM AS A SOURCE AND SINK OF CALCIUM IN MAMMALIAN CARDIAC MUSCLE.
S.C. O'Neill, *P. Donoso, D. Eisner. Department of Veterinary Preclinical Sciences. U. of Liverpool. * Departamento de Fisiología y Biofísica. U. de Chile.

The sarcoplasmic reticulum (s.r) of mammalian cardiac muscle is involved in both the activation of contraction and relaxation. Contraction of cardiac muscle is initiated by the systolic increase of intracellular calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$). This results from (i) entry of calcium into the cell from the extracellular solution via the L type calcium current and (ii) release from the s.r. If one inhibits the s.r. with caffeine, ryanodine of thapsigargin the $(Ca^{2+})_i$ transients is due only to calcium entry on the calcium current and is, therefore, much reduced. In order to estimate the absolute contribution of the s.r. to the normal transient, we release its calcium content rapidly with caffeine and measure the resulting current as the Ca^{2+} is pumped out of the cell on the Na-Ca exchange. When compared with the calcium moved into the cell on the calcium current, the results suggest that the s.r. accounts for up to 90% of the sistolic rise of $[Ca^{2+}]_i$. For relaxation to occur, $[Ca^{2+}]_i$ must be decreased from the systolic to diastolic levels. The role of the sarcoplasmic reticulum in this process can be estimated by comparing the rate constant of fall of $[Ca^{2+}]_i$ when the s.r. is inhibited with that when it is functional. Such experiments suggest that the s.r. contributes about 90% of the relaxation. The remainder is made up partly by Na-Ca exchange and, partly by another mechanism which may be a sarcolemmal Ca-ATPase. Several lines of evidence suggest that the mechanism of calcium release from the s.r.is calcium-induced calcium release (CICR). In support of this, we have shown that rapid liberation of Ca^{2+} by photolysis of the"caged"calcium compound nitr-5 can elicit calcium release from the s.r. There are,however,some unresolved questions concerning CICR. One of interest to us is whether propagated release of calcium can take place under normal conditions. Under pathological conditions, when $[Ca^{2+}]_i$ is elevated, spontaneous waves of increased $[Ca^{2+}]_i$ propagate along a cell. We find, however, that when $[Ca^{2+}]_i$ is normal, locally produced systolic increases of $[Ca^{2+}]_i$ do not propagate. This suggests that the Ca^{2+} released from the s.r., despite being greater than that entering via the sarcolemma is less efective at releasing s.r. Ca. One explanation of this observation is that the calcium entering the cell may go into a restricted space close to the s.r. and results in a very high local $[Ca^{2+}]_i$.

CONTROL POR GLUCOSA, AGONISTAS COLINERGICOS Y ADRENERGICOS DEL $[Ca^{+2}]_i$ EN CELULAS ß DEL PANCREAS HUMANO.(Control of $[Ca^{2+}]_i$ by cholienergic and adrenergic agonists in human pancreatic ß cells). Eduardo Rojas, Patricia Carroll, Illani Atwater. Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Laboratory of Cell Biology and Genetics, National Institutes of Health, Bethesda , U.S.A.

Las células ß del páncreas sintetizan y secretan insulina en respuesta a un aumento de la glucosa en el medio extracelular. Numerosos estudios con células ß de roedores muestran que el control de la secreción de insulina está intimamente ligado a los mecanismos celulares que modulan la concentración de calcio iónico en el citoplasma, $[Ca^{+2}]i$. Sin embargo, esta información obtenida en roedores no se puede generalizar para formular un modelo que incluya la célula ß humana. En este trabajo hemos podido medir los cambios de $[Ca^{+2}]_i$ dependientes de glucosa y su modulación por agonistas colinérgicos y adrenérgicos en la célula pancréatica ß humana en cultivo primario. En un medio fisiológico (2.6 mM $CaCl_2$) sin glucosa la $[Ca^{+2}]_i$ es 84.5 ± 4.7 nM (n= 86) y no cambia en un medio sin calcio (< 200 nM). Glucosa (5.6 - 33 mM) en un medio fisiológico, induce un aumento lento en la $[Ca^{2+}]_i$ llegando a niveles de 300 ± 50.6 nM (n = 19) tanto en células aisladas como en células que forman parte de grupos de células. El aumento en la concentración de Ca^{2+} en respuesta a un aumento rápido de la glucosa de 0 a 22 mM se inicia con un retardo que varia entre 10 y 120 seg en las distintas células. La relación de tipo sigmoideo entre el aumento de la concentración de glucosa y el cambio en la $[Ca+^{2}]_i$ es 50% máxima a una concentración de glucosa de 14.9 mM. En un medio sin calcio el aumento del $[Ca^{+2}]_i$ en respuesta a glucosa (33 mM), es aproximadamente 50% del aumento observado en calcio fisiológico. En presencia o ausencia de calcio en el medio, agonistas coliénergicos también inducen un aumento rápido en $[Ca^{+2}]_i$. Usando agonistas (o antagonistas) específicos de receptores nicotínicos y muscarínicos nuestros resultados demuestran que la respuesta colinérgica se debe a la activación de receptores muscarínicos del tipo M1 y, posiblemente, M3. Finalmente, agonistas adrenérgicos no antagonizan el aumento de $[Ca^{+2}]_i$ inducido por glucosa, antagonistas colinérgicos o despolarización de la célula ß. Estos resultados indican que la $[Ca^{+2}]_i$ es regulada dentro de un margen muy pequeño (80-350nM), además demuestran que el orígen del Ca^{+2} es tanto extracelular como intracelular.

CIGUATOXIN-INDUCED SODIUM-DEPENDENT CALCIUM MOBILIZATION IN MOTOR NERVE TERMINALS AND IN NEURONAL CELLS. J. Molgó, T.F. Simahara, J.X. Comella, A.M. Legrand. Laboratoire de Neurobiologie Cellullaire et Moléculaire, Centre National de la Recharche Scientifique, France and Institut Territorial de Recherches Médicales Louis Malardé, Papeete, Tahiti.

Ciguatoxin (CTX), a complex polyether extracted from poisonous moray eels, exerts its effects primarily by activating voltage-dependent sodium channels, at normal membrane resting potential, causing tetrodotoxin (TTX)-sensitive membrane depolarization and repetitive or spontaneous action potentials in excitable cells. At the neuromuscular junction,CTX markedly enhances spontaneous quantal acetylcholine release from motor nerve terminals,even in a nominally Ca^{2+}-free medium supplemented with EGTA. Ultrastructural analysis of such terminals revealed a marked depletion of clear synaptic vesicles, large dense-core vesicles and enlargement of the nerve terminal membrane. Such actions were completely prevented by TTX suggesting that depend upon Na^+ entry into the terminals. The possibility that CTX could trigger Na^+-dependent Ca^{2+} mobilization was assessed by fura-2 based microfluorometrical recordings in single differentiated mouse neuroblastoma x rat glioma NG 108-15 cells. CTX(25nM) when applied extracellularly to the nominally Ca^{2+}-free medium (containing EGTA) bathing NG108-15 cells caused a rapid transient increase of the intracellular Ca2+,which indicates the mobilization of intracellularly stored Ca2+. TTX applied before CTX, completely prevented such an action indicating that CTX-induced intracellular Ca2+ mobilization occurs via a Na+-dependent mechanism. Interestingly, CTX-induced Ca2+ mobilization prevented subsequent action of bradykinin which may suggest that the Na^+-releasable Ca^{2+} store stimulated by CTX is the same as the one activated by bradykinin i,e.the inositol 1,4,5-trisphosphate-releasable Ca^{2+} store. However, other possibilities can be considered.

SEÑALES TRANSITORIAS DE CALCIO EN MUSCULO ESQUELETICO EN CULTIVO (Calcium transients in cultured skeletal muscle.) E. Jaimovich., J. Hidalgo., E. Rojas. Depto. de Fisiología y Biofísica, F. de Medicina, U. de Chile y C.E.C.S, Santiago-Chile y Laboratory of Cell Biology and Genetics, National Institutes of Bethesda, U.S.A

La contracción muscular esquelética está asociada a un aumento transitorio del calcio intracelular $[Ca^{+2}]i$ que sigue a una despolarización de la membrana de los túbulos transversales por mecanismos en gran medida desconocidos. Como modelo hemos elegido la célula muscular esquelética de embrión de rata en cultivo primario. Esta célula, en diferentes etapas de diferenciación, es capaz de liberar calcio en forma espontánea o inducida la que, en etapas tardías se asocia a contracción. Las señales transitorias de calcio se estudiaron como fluorescencia asociada a indo-1, detectada con fotomultiplicadores e inducida por despolarizaciones con K Cl y como fluorescencia asociada a fluo-3, detectada en imágenes con una cámara de video CCD e inducida por cambios de potencial controlado con una pipeta de patch clamp. En ambos casos se obtiene una señal de calcio transitoria, cuyo curso temporal es aproximadamente el mismo. Las señales inducidas por potasio se pueden ajustar suponiendo dos procesos (activación e inactivación de la señal independientes entre sí y gatillados por el potencial de membrana. La tetracaina, droga que entre otros efectos modifica el movimiento de carga asociado al acoplamiento excitación-contracción, libera calcio y su efecto depende tanto de la dosis como del potencial de membrana.
Financiado por MDA, DTI 9213 y FONDECYT 896.

SIMPOSIO
Sociedad de Bioquímica de Chile
"TECNICAS DE BIOTECNOLOGIA PARA LA DETECCION DE CONTAMINANTES AMBIENTALES"

Coordinador: Dr. Lionel Gil

REMOCION DE IONES METALICOS MEDIANTE BACTERIAS. (Remotion of metal ions by bacteria). Cotoras, D. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile.

La contaminación de aguas por iones metálicos es importante en nuestro país, debido a la intensa actividad minera extractiva y a la concentración de industrias en las grandes ciudades. Por ello, es fundamental poder contar con tecnologías adecuadas, que permitan reducir la concentración de estos contaminantes a nivel de los residuos líquidos industriales y mineros.
La biotecnología ambiental puede ofrecer soluciones a estos problemas de contaminación de aguas, mediante el uso de microorganismos que, por diferentes mecanismos, pueden remover iones metálicos. Así, las envolturas de numerosos microorganismos, tales como bacterias, hongos y microalgas, presentan grupos cargados negativamente, que son capaces de interactuar fuertemente con los iones metálicos presentes en la solución. A este fenómeno de unión pasiva de metales se ha llamado biosorción. Por tratarse de una unión de tipo físico-química, el proceso es reversible. Esto último permite la utilización de los microorganismos en repetidos ciclos de biosorción-desorción, lo que es de gran importancia para un proceso de descontaminación a nivel industrial.
En esta presentación se discutirán, además, los procesos activos de remoción de metales, tales como la bioacumulación y la precipitación mediante bacterias reductoras del sulfato, y su potencial impacto en la descontaminación de aguas.

BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY OF PEROXISOME PROLIFERATION. G. G. Gibson (Molecular Toxicology Research Group, School of Biological Sciences, University of Surrey, Guilford, Surrey GU2 5XH, England, U.K.).

Peroxisome proliferators are a structurally diverse group of chemicals and drugs that cause non-genotoxic liver cancer in experimental animals, particularly rodents. Characteristic liver changes on acute exposure include liver growth (hepatomegaly), ploidy changes, S-phase DNA synthesis and a switch on of the enzymes of the peroxisome proliferator domain, including the cytochrome P4504A sub-family and the enzymes responsible for the peroxisomal b-oxidation of fatty acids.

This presentation will focus on a description of the above biochemical changes in the liver and will highlight the role of molecular biology in understanding the mechanisms of these adaptive responses. In particular the role of the newly discovered Peroxisome Proliferator Activated Receptor in the above processes will be discussed.

UTILIZACION DE TECNICAS BIOTECNOLOGICAS EN LA DETECCION DE AGENTES POTENCIALMENTE MUTAGENICOS Y CARCINOGENICOS EN EL AIRE DE SANTIAGO (Use of biotechnology techniques in the detection of potentially mutagenic and carcinogenic chemical pollutants in the air of Santiago). L. Gil. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El ensayo de mutagenicidad en distintas cepas de Salmonella typhimurium es usado para identificar en forma rápida, contaminantes con potencial actividad mutagénica y carcinogénica. El test se basa en el uso de distintas cepas que revierten de dependencia a independencia de histidina y las cuales responden a la presencia de mutágenos con un aumento en la frecuencia de reversión. Este ensayo lo hemos utilizado para detectar la presencia de agentes mutágenos y posiblemente carcinogénicos, con las cepas TA 98, TA 98 NR y TA 98/1,8-DNP6. Los resultados con la cepa TA 98 en presencia y ausencia de sistema de activación metabólica (S9) permitieron demostrar que el material particulado del aire de Santiago es altamente mutagénico. De 88 muestras evaluadas en 1990 y 1991, el 92 % en ausencia de S9 y el 95 % en presencia de S9 dió respuesta positiva, indicando la presencia de agentes mutagénicos directos e indirectos. Las razones de mutagenicidad (RM) obtenidas fueron considerablemente mayores que las que han sido publicadas en la literatura. Por HPLC hemos cuantificado 16 hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) entre los cuales se identificaron 6 descritos por la OMS como cancerígenos. En 1991 los niveles de HPAs variaron entre 138 y 997 ng /m3 observándose un efecto estacional con concentraciones mucho más elevadas en los meses de temperaturas más bajas. Los % de HPAs cancerígenos fueron muy elevados respecto al total de HPAs detectados y variaron entre 49 y 85%. No se encontró una correlación directa entre concentración de HAPs y RM sugiriendo una contribución importante de otros contaminantes a la mutagenicidad observada. Resultados con las cepas TA 98 NR y TA 98/ 1,8 DNP6 sugieren que en el aire de Santiago están presentes mononitro y dinitroarenos (mutágenos directos), contaminantes de alta toxicidad descritos entre los más potentes agentes mutagénicos. Las elevadas concentraciones de HPAs, la presencia de nitroarenos, la gran potencia mutagénica de las muestras analizadas y los efectos que provocan otros contaminantes (gases, bioaerosoles) sugieren que el aire que se respira en Santiago es altamente tóxico. Los HPAs y los nitroarenos provocan a nivel del material genético efectos acumulativos generalmente irreversibles que demoran muchos años en expresarse. Esto indica que la población está permanentemente expuesta a contaminantes que representan un gran riezgo para su salud cuyos efectos solo podrán ser evaluados en el largo plazo. (FONDECYT 1314-91 y OEA).

BIOSENSORES CONSTRUIDOS MEDIANTE INGENIERIA GENETICA PARA EL MONITOREO DEL AMBIENTE, ANALISIS DE ALIMENTOS Y APLICACIONES EN SALUD. (Genetically engineered biosensors for environmental monitoring, food testing and health applications.) Holmes, D., Dubey, S. y Gangolli, S. Department of Biology, Clarkson University, Potsdam, NY 13699, USA.

Hemos aplicado las técnicas de la ingeniería genética para fusionar genes lux junto a una variedad de distintos promotores genéticos inducibles. Los genes lux derivan de una bacteria marina, *Vibrio fischeri*, y codifican para enzimas que producen luz. Los promotores inducibles provienen de una variedad de microorganismos que son activados por IPTG (un análogo al azúcar), mercurio, cobre o PCBs/bifenil, respectivamente. Al colocar a estos promotores junto a los genes lux, se produce luz en respuesta al compuesto activante específico. La luz resultante se puede medir en cultivos líquidos de los microorganismos usando un luminómetro o en medios sólidos usando una cámara CCD intensificada respaldada por capacidades computarizadas de análisis de imágenes. Se presentarán datos referentes a la sensibilidad, la especificidad y el rango dinámico de estos biosensores. Por ejemplo, el biosensor mercurio puede detectar 1 nM de Hg^{+2} (de sensibilidad aproximada a la de la absorción atómica) y los sensores de cobre detectan alrededor de 1 μm de Cu^{+2} o Cu^{+1}. Los biosensores miden específicamente la biodisponibilidad de un compuesto.

Se discutirán las aplicaciones de los biosensores para el análisis de compuestos en muestras ambientales incluyendo el agua, y en desechos de la minería y tóxicos. También se describirán investigaciones preliminares en el uso de los biosensores para análisis de sangre, saliva y alimentos y para estudios fundamentales hacia la regulación de los genes.

(Trabajo apoyado por 'grants' de la National Science Foundation, Office of Naval Research, New York State Science and Technology Foundation, Buffalo Hazardous Waste Center, General Electric, Geobiotics, Inc., y la New York State Energy, Research and Development Authority.)

SIMPOSIO
Fundación Chilena para Biología Celular
"TRANSDUCTORES DE SEÑALES"

Coordinadores: Dras. Cecilia Hidalgo, Paulina Bull

ONCOPROTEINAS COMO FACTORES REGULADORES DE LA TRANSCRIPCION. (Oncoproteins as transcriptional regulatory factors). Bravo, R. Department of Molecular Biology, Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute. P.O. Box 4000, Princeton, New Jersey 08543-4000 USA

Uno de los descubrimientos más importantes de los últimos cuatro años en el campo de los oncogenes ha sido la identificación de oncoproteínas nucleares como factores de la transcripción o subunidades de complejos reguladores de la transcripción. A pesar de que se había postulado desde hace tiempo que las oncoproteínas nucleares podrían afectar la expresión genética, no existía ninguna evidencia definitiva que apoyara esta hipótesis hasta el descubrimiento de que las proteínas Jun y Fos son componentes del factor de transcripción AP-1. Esta asociación de los oncoproteínas nucleares, originalmente identificadas como los productos oncogénicos de retroviruses, y un conocido complejo de transcripción puede ser considerado un paradigma de los oncogenes que codifican factores de transcripción. Hoy en día hay suficiente evidencia como para postular que la mayoría, si es que no todas las oncoproteínas nucleares codifican factores reguladores de la transcripción.

Algo muy importante es el hecho de que las oncoproteínas nucleares que corresponden a los factores reguladores de transcripción son miembros de familias multigénicas. Por lo tanto la identificación de un producto de un dado oncogén como factor de transcripción casi en forma natural lleva al descubrimiento de otros genes que codifican proteínas relacionadas, las cuales a menudo también tienen capacidad oncogénica. Algunos de estos casos serán presentados como ejemplos.

CONTROL OF Ca^{2+} ENTRY BY INOSITOL PHOSPHATES. R.F. Irvine AFRC Institute of Animal Physiology and Genetics Research, Babraham, Cambridge CB2 4 AT, U.K.

The mobilisation of intracellular Ca^{2+} by inositol trisphosphate is accompanied by an increase in Ca^{2+} influx into the cells. This Ca^{2+} entry is of crucial physiological importance, as it sustains the Ca^{2+} rise, drives the Ca^{2+} oscillations and waves that occur at low agonist doses, and is necessary for most physiological responses. The mechanism remains obscure, with the two principal opposing hypotheses being (a) the Ca^{2+} entry is controlled directly by the Ca^{2+} content of the intracellular stores, (b) Ca^{2+} entry in controlled by inositol trisphosphate and inositol tetrakisphosphate together. Our current ideas on how inositol phosphates control Ca^{2+} entry focus on a hypothesis which unites these two alternatives, in one mechanism, and these ideas will be discussed.

PROTEÍNA QUINASA C Y TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES; MODULACIÓN POR TIOÉSTERES DEL COENZIMO A. (Protein kinase C and signal transduction; modulation by acyl-Coenzyme A thioesters). Bronfman, M., Fac. Cien. Biol., P. Universidad Católica de Chile.

La proteína quinasa C (pqC) tiene un rol fundamental en la regulación de importantes fenómenos fisiológicos, como transducción, funciones a nivel de receptores, diferenciación celular y carcinogénesis. La enzima depende de fosfolípidos y calcio, expresando su máxima actividad en presencia de diacilglicerol, segundo mensajero generado en la membrana plásmica al activarse el ciclo del fosfatidilinositol. En condiciones normales, la mayor proporción de la enzima se encuentra en el citosol, y se supone que migra a la membrana en respuesta a la generación de diacilglicerol en ella. No se sabe que factores regulan la proporción de enzima unida a membrana, y existen evidencias de que la fosforilación de proteínas vía pqC inducida por algunas hormonas sólo involucra la enzima unida a membranas y no requiere de migración de la enzima citosólica. De esta forma, es posible que la proporción de enzima en la membrana plásmica sea el factor que regule la magnitud con que una señal extracelular es amplificada. Nosotros hemos descrito que los acil-Coenzimos A de ácidos grasos son capaces de activar la pqC *in vitro* y que el mecanismo molecular de esta activación esta basado en una disminución de los requerimientos de la enzima por fosfolípidos. Tenemos evidencia de que este menor requerimento se manifestaría *in vivo* por una mayor proporción de enzima unida a membranas, por lo que los niveles intracelulares de acil-CoAs podrían estar regulando la actividad de pqC, vía su mayor o menor presencia en la membrana plásmica. Por otra parte, hemos encontrado que una serie de compuestos con características de carcinógenos no-genotóxicos, que incluyen diversas drogas, plastificantes, herbicidas, agroquímicos y otros contaminantes ambientales, son biotransformados a tioésteres del CoA. Estos derivados, alcanzan una alta concentración intracelular y podrían estar alterando muchos de los procesos en que los acil-CoA naturales intervienen, incluyendo su posible rol en la modulación de la cantidad de pqC unida a membranas. (Financiamiento Fondecyt)

TRANSDUCCION DE SEÑALES A TRAVES DE PROTEINAS G: ANALISIS MOLECULAR. (Signal transduction through G proteins: A molecular view). Olate,J. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Uno de los sistemas de transducción de señal más estudiado es aquel regulado por proteínas G, grupo al cual pertenecen la adenilil ciclasa, fosfolipasa C, fosfolipasa A_2, fosfodiesterasa de cGMP y canales iónicos. Este sistema de transducción está formado por 3 componentes proteicos de membrana: un detector de la señal, el receptor (R); un transductor de la señal, la proteína G (G) y un amplificador de la señal, el sistema efector (E). Estos tres componentes tienen la función de traspasar la señal originada en el exterior de la célula hacia el interior de ella.

El conocimiento a nivel molecular de estos componentes ha avanzado en forma espectacular en estos tres últimos años, razón por la cual el propósito de esta exposición es presentar una visión molecular actualizada de este sistema. Se hace énfasis sobre el problema de especificidad de acoplamiento entre R-G y E, basado esto principalmente en modelos estructurales propuestos para estas proteínas y en estudios de biología molecular conducentes a definir las regiones involucradas en este acoplamiento. Finalmente se discute la participación de los componentes R y G como posibles promotores de transformación celular (oncogenes).

Proyecto FONDECYT 91-1136.

SIMPOSIO: "DEL TROPICO A LA ANTARTICA. ECOLOGIA Y FUNCION DE LA PLANTA EN ECOSISTEMAS EXTREMOS"

Coordinadores: Dras. Gloria Montenegro, Miren Alberdi

SIMPOSIO DEL TROPICO A LA ANTARTICA. ECOLOGIA Y FUNCION DE PLANTAS EN ECOSISTEMAS EXTREMOS.(From the tropics to the Antartic. Ecology and function of plants in extreme ecosystems).
G.Montenegro y M.Alberdi* (Coordinadoras).Departamento de Ecología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile e *Instituto de Botánica. Universidad Austral de Chile.

Las plantas y los animales interactuando entre sí y con el ambiente físico constituyen el fundamento del desarrollo sustentable. El desarrollo debe estar centrado en las personas y basado en la conservación la cual solo es posible de llevar a cabo si conocemos la biología de las especies que conforman las comunidades o ecosistemas. Este conocimiento fundamental, que implica interpretar las adaptaciones de las especies, nos permite predecir la potencialidad de estos recursos y su posible utilización para el mejoramiento y selección de especies que puedan prosperar en ambientes desfavorables. Este objetivo no se logra si se desconocen las características estructurales y fisiológicas de las especies. De hecho, la contínua pérdida de biodiversidad es un indicio revelador del desequilibrio entre las necesidades humanas y la capacidad que ofrece la naturaleza. Este simposio pretende entregar una visión globalizada de ecosistemas ecológicamente importantes del Hemisferio Sur, enfatizando la idea que su conservación y manejo productivo requiere de un claro entendimiento de los factores que controlan la regeneración natural de las especies, de su fisiología y la dinámica de las comunidades de las cuales forman parte.

Proyecto FONDECYT 747/91 a G.Montenegro, FONDECYT 0898/91 y DID-UACH 9014 a M.Alberdi.

FOTOSINTESIS, OSMOLALIDAD Y EFICIENCIA DE USO DE AGUA DE ESPECIES DE MANGLAR EN AMBIENTES DE SALINIDAD CONTRASTANTE. (Photosynthesis, Osmolality and Water Use Efficiency of Mangrove Species from Environments of Contrasting Salinity). Medina, E. Centro de Ecología, I.V.I.C. Aptdo. 21827. Caracas 1020-A.

Especies de los géneros *Rhizophora*, *Laguncularia* y *Avicennia* crecen en ambientes de salinidad y condiciones de inundación variable. *Rhizophora* spp. predominan en ambientes estuarinos o costeros de baja energía pero con flujo continuo de agua, mientras que *L. racemosa*, y especialmente *A. germinans*, crecen en áreas de aguas estancadas. La tasa de fotosíntesis de todas las especies está colimitada por difusión y carboxilación en un amplio margen de osmolalidad tisular. Osmolalidades mayores a 400 mmol/Kg disminuyen la capacidad fotosintética. La osmolalidad tisular varía linealmente con la osmolalidad del agua intersticial y está determinada por la acumulación de Na^+ y Cl^-. La mayor tolerancia salina de *Avicennia* spp. se debe a relaciones K^+/Na^- elevadas a osmolalidades superiores al doble de la concentración de agua de mar (por la presencia de ATP-asas específicas de K muy activas). La osmolalidad de ejemplares estuarinos de todas las especies es menor que la de los costeros. La eficiencia de uso de agua es menor en los ejemplares estuarinos ($\delta^{13}C$ –27 a –29 ‰) que en los costeros ($\delta^{13}C$ –25 a –26 ‰). La capacidad productiva está inversamente relacionada con el $\delta^{13}C$.

ECOFISIOLOGIA DE LIQUENES ANTARTICOS. (Ecophysiology of Antarctic lichens). **Kappen,L., Institut für Polarökologie und Botanisches Institut, Universität Kiel, Deutschland.**

Lichens forming the dominant element of the flora and vegetation of Antarctica can be considered as examples for a successful adaptation to extreme life conditions. Some capabilities characterize lichens as a priori adaptation: they are extremely tolerant to low temperature stress, their metabolism is comparatively high at temperatures around 0°C. As poikilohydrous systems they reveal an opportunistic life strategy. Lichens can widely propagate by vegetative reproduction. Since over 10 years our research group investigates the living conditions in lichen habitats of the maritime and continental Antarctic region. Light and temperature are relevant to lichens only if moisture from air or from the substrate have activated the lichen thallus. A comparison of habitat conditions along a gradient from the maritime Antarctic to the Dry Valleys demostrates that the microclimatic conditions (relevant to active lichens) are most identical at all places. This results from the strategy of the lichen that it grows in more sheltered position the harsher the macroclimate is. Laboratory and in situ investigation show, how lichens have a low productivity but are able to make use of situations that are totally unfavourable for other organisms. Lichens can become photosynthetically activated by snow under freezing conditions. A thin cover of snow is, therefore, favourable, however, it can be dangerous if ambient irradiance is very high, and the lichens become photoinhibited. Normally the lichen is productive when photon flux density is moderate or low. Consequently, the photosynthetic production of lichens is a discontinuous process. Life is subjected to conditions far below the physiological optimum. The adaptation results from the capability to exist permanently under pessimum conditions.

FITOGEOGRAFIA Y RESPUESTAS AL STRESS DE PLANTAS EN EL DESIERTO DE ATACAMA DEL NORTE DE CHILE. (Phytogeography and Plant Stress Response in the Atacama Desert of Northern Chile). **P.W.Rundel. Laboratory of Biomedical and Environmental Sciences. Department of Biology. University of California, Los Angeles.**

The Atacama Desert and adjacent Peruvian Desert form a continuous belt for more than 3500 km along the wester escarpment of the Andes. These arid environments result from a climatic regime dominated by the cool,north-flowing Humboldt Current and the topographic barrier of the Andes to the east.

Atmospheric conditions influenced by a stable, subtropical anticyclone result in a mild, uniform coastal climate nearly devoid of rain, but with the regular formation of thick stratus clouds below 1000 m during winter. Where coastal topography is low and flat, the clouds dissipate inward with little biological impact. However, where isolated mountains or steep coastal slopes intercept the clouds, a fog-zone develops. This moisture allows the development of plant communities termed lomas formations. These assemblages function as islands separated by hyperarid habitats devoid of plant life. Since growth is dependent upon moisture, an understanding of climatic patterns is essential to interpret present-day plant distributions. Topography and substrate combine to influence patterns of moisture availability. The requirements and tolerances of species ultimately determines community composition. Given these hyperarid conditions, and unusual significance of moisture input from fogs, endemic species have evolved a number of remarkable strategies of adaptation. Species endemism is high suggesting that the lomas formations have evolved in isolation from their nearest geographyc neighbors in the Andes. While the arid environment is continuous, there appears to be a significant barrier to dispersal batween 18° and 22° S.L in extreme northern Chile. Less than 7% of the total flora of the combined Atacama and Peruvian Deserts occur on both sides of this barrier. The vascular plant flora of the Atacama Desert is relatively small, with less than 400 species. Unusually strong conditions of drought over the past half century has had profunded effects on the biodiversity of loma communities and local extinctions of species may be widespread

RELACIONES MUTUALISTAS, GREMIOS Y ESTUCTURA COMUNITARIA EN EL BOSQUE DE CHILOE (Mutualistic relationships, guilds, and community structure in the forest of Chiloé) Armesto, J. J., Smith-Ramirez, C. & Sabag, C. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Sólo recientemente han comenzado a estudiarse las interacciones entre aves frugívoras y nectarívoras y las plantas en bosques templados de Sudamérica. Las decisiones sobre manejo, protección y utilización de estos bosques a menudo ignoran este aspecto de la estructura comunitaria.

Estudios de las interacciones entre aves y plantas relacionadas con la polinización y la dispersión de las semillas en el bosque templado de Chiloé sugieren que existen "gremios" o conjuntos de especies definidos por su relación con un número reducido de especies de polinizadores o dispersantes. Las aves frugívoras y nectarívoras aparecen como generalistas alimentándose de varias especies de plantas. La dispersión de semillas en Chiloé está relacionada principalmente con tres especies de aves (*Elaenia albiceps*, *Scelorchilos rubecula* y *Turdus falklandii*). La polinización de especies con flores tubulares rojas es realizada sólo por un picaflor (*Sephanoides galeritus*). Dentro de los gremios de plantas y sus polinizadores y dispersantes algunas especies parecen jugar un rol "pivotal" para la mantención del conjunto. La desaparición, o reducción poblacional, de estas especies pivotales podría tener consecuencias negativas para la biodiversidad.

Proyecto Fondecyt 92-1135.

SIMPOSIO: "FACTORES DE CRECIMIENTO: BIORREGULADORES DE LA FUNCION CELULAR"

Coordinadores: Drs. Mario Sapag-Hagar, Sergio Lavandero

FACTOR DE CRECIMIENTO NEURONAL (NGF) Y REGULACION DE LA FUNCION OVARICA. ASPECTOS BIOQUIMICOS Y MOLECULARES*. (Nerve growth factor (NGF) and regulation of the ovarian function. Biochemical and molecular studies). HE Lara. Lab. Neurobioquímica. Depto. Bioquímica y Biol.Molecular Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas. U. de Chile.

El Factor de Crecimiento Neuronal (NGF) participa en la diferenciación, supervivencia y función neuronal. La disponibilidad del NGF para la neuronas se logra por un sistema de transferencia a través de dos tipos de receptores. El primero de ellos (ubicado en el efector), es una proteína de 75 kDa con baja afinidad y alta capacidad por el NGF (p75NGFR) y el segundo (en la neurona), es una proteína de 140kDa (de alta afinidad)y con actividad de tirosina kinasa (p140NGFR-trk).

Hemos demostrado la presencia del gen para el NGF en ovario de rata, y su importancia para la función ovárica. La inmunoneutralización del NGF impide el desarrollo neuronal y desorganiza el desarrollo folicular, secreción de esteroides y ovulación. Cuando no existen neuronas que lo capturen (desnervación y transplante), se produce acumulación del NGF. Este aumento es la señal trófica para la reinervación, la que es fundamental para la recuperación de la función.

Los niveles de NGFmRNA no cambian ni por hormonas ni por desnervación, pero sí lo hacen los mRNA y las proteínas de los respectivos receptores: Existe un aumento antes de la ovulación y una brusca caída después de ella. Estos resultados se correlacionan con cambios en la actividad nerviosa y sugieren que esta última es en gran parte regulada por el efector a través de la expresión de receptores para NGF. El conocimiento de los factores que desencadenan estos cambios permitirá comprender la jerarquía de estos mecanismos neuroendocrinos en la regulación de la función ovárica.

(*) Financiado por TWAS BC90-069, DTI B3344-9213 y The Rockefeller Foundation.

RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMICO (R-EGF) EN CEREBRO Y SISTEMA GASTRICO. (Epidermal growth factor receptor in brain and gastric system). González, A., Faúndez, V., Salazar, G., Manzano, M., Garrido, J. y Calderón, F. Depto. Inmunología Clínica y Reumatología, Fac. Medicina; y Depto. Biiología Celular, Fac. Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

La función del R-EGF ha sido tradicionalmente estudiada en procesos de proliferación y diferenciación celular. Este receptor es una glicoproteína de transmembrana de 170 kDa. En la membrana plasmática presenta un dominio intracitosólico con actividad tirosina kinasa, que lo relaciona a oncogenes y es regulable por la unión del EGF al dominio extracelular. Su función en organismos adultos es prácticamente desconocida. Nuestro interés se ha centrado en estudiar su asociación al citoesqueleto celular, porque podría regular la actividad del aparato motriz, y su expresión funcional en sistemas celulares altamente diferenciados que normalmente no proliferan, como son las células del tejido nervioso y gástrico.

Hemos demostrado el R-EGF de cerebro de rata, y su funcionalidad como tirosina kinasa en la región sináptica, estudiándolo en preparaciones de sinaptosomas. Tenemos evidencias de su endocitosis y reciclaje en esta región, y de diferencias funcionales en cerebro de animales recién nacidos. El sistema experimental de estudio permitirá evaluar procesos que pudieran tener expresión fisiológica. Por otro lado, hemos observado en glándulas gástricas aisladas una asociación del R-EGF al citoesqueleto, que es liberada por ATP. Esta es la primera evidencia, en una proteína de membrana plasmática, que sugiere una interacción regulada (no-constitutiva) con la matriz celular, similar a las descritas en numerosos tipos de interacción proteína-proteína, especialmente entre elementos del citoesqueleto. Además, la propiedad de elución del R-EGF del citoesqueleto por ATP parece ser tejido dependiente, no observándose en líneas celulares establecidas. Los estados de asociación y no-asociación del R-EGF al citoesqueleto podrían regularse por diversos factores *in vivo*, e influenciar la funcionalidad del receptor.

(Financiado en parte por proyecto Fondecyt 721/91)

FACTORES DE CRECIMIENTO EN EL DESARROLLO Y FUNCION DEL TEJIDO MAMARIO* (Growth factors in the development and funtion of mammary tissue). Lavandero S., Sapag-Hagar M., Foncea R., Tapia V., Piddo AM., Cartagena G., Ebensperger R. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El desarrollo y función del tejido mamario normal depende, además del clásico control endocrino multihormonal, de complejas interacciones entre células o de éstas con la matriz extracelular. Prominentes actores en tales interacciones son un grupo heterogéneo de polipéptidos conocidos como factores de crecimiento que se sintetizan y actúan a nivel intratisular como hormonas paracrinas, autocrinas o intracrinas. En general, sus acciones son multifuncionales y es muy probable que *in vivo* algunas respuestas celulares dependan del tipo de interacciones entre ellos.

Trabajos realizados en distintos Laboratorios, incluyendo el nuestro, han demostrado la participación de los factores de crecimiento epidérmico (EGF), transformante tipo ß (TGF-ß), fibroblástico básico (bFGF) y el análogo a la insulina de tipo I (IGF-I) en el control de la proliferación y diferenciación de las células epiteliales mamarias de rumiantes y no rumiantes.

Nuestros estudios y los de T. Oka realizados tanto *in vivo*, mediante sialoadenectomía, como en cultivos primarios de células epiteliales mamarias, demostraron un efecto mitogénico del EGF durante el período de proliferación mamaria, concordante con la evolución de sus receptores. Igualmente, se apreció una inhibición de la diferenciación celular precoz. Efectos análogos se obtuvieron con el bFGF tanto en ratón como en caprino, los cuales son de naturaleza paracrina-autocrina, a diferencia de los del EGF de tipo preponderantemente endocrino. El IGF-I mostró una acción dual al favorecer tanto la proliferación como la diferenciación celular, con aumento de la lactogénesis, en períodos definidos del desarrollo mamario. Por otra parte, el TGF-ß mamario ha resultado ser, *in vivo*, un notable inhibidor del desarrollo de este proceso.

Se concluye que tanto el desarrollo de la glándula mamaria como su función lactogénica están bajo el control de múltiples factores de crecimiento y de sus interacciones en concordancia, con la ya clásica acción hormonal.

*Proyectos FONDECYT 91-0879, 91-0880 y DTI U. Chile 3113-9223.

LOS FACTORES DE CRECIMIENTO (FC): UNA VISION INTEGRATIVA FISIOLOGICO-MOLECULAR. * (Growth factors: An integrative physiological and molecular approach). Sapag-Hagar, M. Dpto. Bioquímica y Biol. Molecular. Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile.

Los FC promueven o inhiben una serie de funciones celulares al actuar en forma autocrina o paracrina en la comunicación local intercelular. Representan señales bifuncionales que llevan información externa al receptor y desde éste al interior de la célula a través de su actividad proteína tirosina kinasa intrínseca o por interacción con un oligómero G de membrana.

La acción estimuladora o inhibidora de los FC depende del estado de desarrollo o diferenciación de sus células blanco es decir, del conjunto de otros receptores y efectores presentes. Estos factores pueden también mediar o modificar las acciones locales de las hormonas clásicas por modulación de un grupo de factores transcripcionales nucleares (FTN) para genes específicos.

Los FC constituyen un lenguaje molecular intercelular a nivel de membrana y los FTN uno de comunicación e integración intracelular a nivel nuclear. Ambos sistemas se basan en interacciones diméricas u oligoméricas de ligandos con receptores, ambos autorregulan su propia expresión génica y ambos son multifuncionales. El interés actual reside en dilucidar cómo se integran ambos lenguajes en el núcleo y cómo éste altera su programa de transcripción génica para responder adecuadamente al entorno.

El control génico por FC de moléculas de la matriz extracelular y de sus receptores (integrinas), así como de las de adhesión celular (cadherinas), importantes en la proliferación celular y morfogénesis, constituyen también un área de creciente interés.

La naturaleza multifuncional de los FC constituye un vínculo mecanístico común, a nivel molecular, para importantes procesos fisiológicos y patológicos, tales como inflamación, angiogénesis, reparación tisular, cáncer, etc.. Esto les abre, junto con su obtención por biotecnología, promisorias aplicaciones terapéuticas y conceptuales en biomedicina.

(*) Proyectos FONDECYT 91-0879 , 91-0880 y DTI B 3113-9223.

EXPRESION DE FACTORES DE TRANSCRIPCION DURANTE LA INDUCCION DE LA PROLIFERACION CELULAR. (Expression of transcription factors during the onset of cell proliferation). Bravo, R., Dobrzanski, P., Carrasco, D., Kovary, K. y Ryseck, R.-P.
Department of Molecular Biology, Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute, P. O. Box 4000, Princeton, New Jersey 08543-4000.

La inducción de la proliferación celular por factores de crecimiento está acompañada de una rápida expresión de numerosos genes, incluyendo los diferentes miembros de las familias *fos, jun y rel*. Por inmunoprecipitación se ha demostrado la existencia *in vivo* de diferentes heterodímeros Fos/Jun después de estimular la proliferación celular. La razón entre los diferentes heterodímeros está gobernada directamente por la abundancia de las diferentes proteínas Fos y Jun. La microinyección de anticuerpos inmunopurificados contra las diferentes proteínas Fos y Jun, ha demostrado que la actividad de éstas es esencial para la progresión a través de G1 y la entrada a la fase S del ciclo celular.

Hemos identificado un nuevo gen que es inducido por factores de crecimiento en fibroblastos que contiene una región de alta homología con *c-rel*, al cual hemos llamado *relB*. Los heterodímeros formados entre RelB y p50-NF-kB reconocen con gran afinidad el sitio kB. Más aún, los heterodímeros RelB/p50-NF-kB, a diferencia de los homodímeros p50-NF-kB, activan eficientemente la transcripción de un promotor regulado por un sitio kB.

Estudios a cerca de la expresión *relB* y p50-NF-kB durante la embriogénesis del ratón, demuestran que la expresión de *relB* está restringida a un número limitado de tipos celulares, a diferencia de p50-NF-kB que se expresa en numerosos tejidos.

THE ROLE OF EGF AND EGF RECEPTOR IN REGULATION OF LIVER REGENERATION. Oka, T. Laboratory of Molecular and Cellular Biology, NIDDK, National Institutes of Health.

EGF is a single-chain polypeptide (Mr. 6045), wich is originally isolated from the submandibular glands of male mice. EGF serves as a potent mitogen for a variety of cell types in culture and exerts its effect on the proliferation and differentiation of various cells in vivo. The effect of EGF is mediated by a specific membrane receptor (EGFR) which consists of 1,186 amino-acid residues with three estructural and function elements; an extracellular EGF binding domain, a transmembrane domain and an intracellular domain possessing tyrosine-specific protein kinase activity. As a series of our studies to assess the physiological role of EGF, we examined the role of EGF and its receptor gene expression in liver regeneration after partial hepatectomy (PH). Two weeks before PH, mice were sham-operated or sialadectomized (SX) to reduce plasma EGF levels. SX mice showed much reduced plasma EGF levels compared with controls. After PH, SX mice were treated with or without a daily injection of EGF and the rate of DNA synthesis in the regenerating liver was monitored. Control mice showed a sharp peak of DNA synthesis at 48 hr. after PH while SX mice showed a delayed peak at 84 hr. Treatment of SX mice with EGF completely restored the pattern of DNA synthesis. These results suggest that the submandivular gland EGF plays a role in promoting the early stage of liver regeneration. During liver regeneration, EGFR binding and its mRNA levels in the tissue showed a rapid peak 8 hr. after PH, whereas the sam operation had no effect on these levels. The increase in EGFR mRNA occurred primarily as a consequence of an increase in the rate of transcription, whereas PH slightly increased the stability of EGFR mRNA. Treatment of PH-mice with cycloheximide inhibited the increase in transcription, suggesting that transcription of EGFR gene induced by PH requires protein synthesis. These observations suggest that the induction of EGFR mRNA preceding DNA synthesis represents a part of pleiotropic response in liver regeneration in which EGF functions as a growth promoting agent.

SIMPOSIO
"REGULACION DE LA ACTIVIDAD NEURONAL"

Coordinadores: Drs. Fernando Torrealba y Juan Bacigalupo

EFECTOS ELECTROFISIOLOGICOS DE LA SEROTONINA SOBRE LAS NEURONAS DEL HIPOCAMPO: UN MODELO PARA LA REGULACION DE CANALES POR RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEINAS G EN EL CEREBRO. (Serotonin-induced electrophysiological responses in the hippocampus; a model for G protein mediated regulation of ion channels in the brain). Andrade, R., Depto. de Farmacología y Fisiología, St. Louis University School of Medicine, St. Louis, MO 63104,USA.

Usando registros intracelulares o de whole cell en cél. piramidales del hipocampo demostramos que la serotonina y el baclofen producen una hiperpolarización que resulta de un aumento de una corriente de potasio mediada por receptores del tipo 5-HT_{1A} y $GABA_B$ respectivamente. Se sabe que estos receptores inhiben la adenilato ciclasa. Sin embargo, dicha hiperpolarización es independiente de cambios en AMP . En vez, los receptores 5-HT_{1A} y $GABA_B$ activan una proteína G de la familia G_i que parece actuar directamente sobre el canal de potasio.

Recientemente, hemos examinado la posibilidad de que los receptores 5-HT_{1A} y $GABA_B$ señalen efectos electrofisiológicos adicionales a través de su habilidad de inhibir la adenilato ciclasa. La estrategia usada fue examinar los efectos de los receptores 5-HT_{1A} y $GABA_B$ sobre respuestas señaladas por receptores B-adrenérgicos a través de la cascada G_S/adenilato ciclasa/AMP cíclico. Para nuestra sorpresa estos experimentos demostraron que los receptores 5-HT_{1A} y $GABA_B$ no inhiben sino al contrario potencian los efectos mediados a través de receptores B-adrenérgicos en estas células. Estos resultados son consistentes con la reciente demostración bioquímica que algunas ciclasas (tipo II y IV) pueden ser estimuladas por proteínas de la familia G_i, si éstas han sido previamente activadas a través de G_S. En forma más general, estos resultados sugieren que los receptores 5-HT_{1A} y $GABA_B$ en el hipocampo señalan sus acciones a través de dos mecanismos moleculares independientes: Primero una regulación directa de canales de potasio y segundo una modulación del funcionamiento de receptores acoplados a proteínas G del tipo G_S.

FISIOLOGIA DE FOTORRECEPTORES DE INVERTEBRADOS: UNA VISION MOLECULAR. (Physiology of invertebrate photoreceptors: a molecular view). Bacigalupo, J. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las células fotorreceptoras de invertebrados son notables sensores de luz. En comparación con los bastones de vertebrados, estas células responden en un rango de intensidad luminosa mucho más amplio (7 órdenes de magnitud en vez de 4), sus respuestas se desarrollan más rapidamente y el tiempo de recuperación de la célula después de terminado el estímulo es considerablemente menor. Estas notables propiedades residen en las características del mecanismo de transducción, que es mucho más complejo pero más eficaz que el de vertebrados. Aunque no se conocen todas sus etapas, recientes descubrimientos han permitido identificar algunos de los componentes moleculares involucrados en este proceso, su participación en la generación de la respuesta a la luz, su regulación y su distribución espacial en la célula.

Proyecto Fondecyt 90-1116.

FISIOLOGIA DE LA NEURONA OLFATORIA DE VERTEBRADOS. (Physiology of vertebrate's olfactory neurons). Labarca, P., Bacigalupo, J., Delgado, R., Morales, B. y Jorquera, O. Centro de Estudios Científicos de Santiago y Fac. de Ciencias, Universidad de Chile.

Un primer paso en la comprensión de la percepción olfativa consiste en definir los mecanismos involucrados en la transducción química en los receptores olfatorios. En los vertebrados, los receptores olfatorios son neuronas bipolares provistas de un axón que se proyecta al bulbo olfatorio y que en su extremo apical presentan un botón dendrítico del que nacen varios cilios que están expuestos al medio externo y donde se genera el potencial de receptor en respuesta a agentes químicos odorantes. Cada neurona olfatoria es capaz de responder a un número acotado de agentes odorantes con aumentos en la frecuencia de su actividad eléctrica. Dado que el estudio de neuronas olfatorias directamente en el epitelio olfatorio es muy complicado, se ha hecho necesario diseñar métodos para aislar neuronas olfatorias intactas.

Hemos desarrollado las condiciones experimentales para disociar mecanicamente neuronas olfatorias de epitelio olfatorio del sapo *caudiverbera caudiverbera*. Las neuronas aisladas conservan su morfología peculiar, incluyendo la presencia de cilios olfatorios y el movimiento ciliar. Usando la técnica para el registro de corrientes en parches de la membrana hemos investigado los patrones de actividad eléctrica inducidos por distintas clases de agentes odorantes, por nucleótidos cíclicos y por la despolarización de la membrana. Además, hemos examinado las corrientes involucradas en la modulación de la actividad eléctrica en neuronas olfatorias aisladas y hemos disecado sus características electrofisiológicas y farmacológicas. Usando la técnica de reconstitución de fragmentos vesiculares de la membrana plasmática en bicapas planas de lípido, hemos estudiado las propiedades de conductancia de la membrana de los cilios olfatorios y los mecanismos de modulación de estas conductancias. FONDECYT 613/91 y FONDECYT 1116/90.

MECHANISMS UNDERLYING SYNAPTIC PLASTICITY IN THE HIPPOCAMPUS. Malenka, R.C., Dept.'s of Psychiatry & Physiology, University of California, San Francisco, CA. U.S.A.

In the hippocampus, a medial temporal lobe structure that is critically important for many forms of learning and memory, brief repetitive activation of excitatory afferents causes a long-lasting, stable increase in synaptic strength. This long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission has provided the most compelling model for a cellular mechanism related to learning and memory and thus has been the object of vigorous experimental attack to determine its underlying mechanisms.

The initial steps involved in the induction of LTP are well-understood. Glutamate, the excitatory neurotransmitter at these synapses, simultaneously binds to two distinct sybtypes of postsynaptic receptor; AMPA (-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolcpropionic acid) and NMDA (N-methyl-D-aspartate) receptors. The NMDA channel exhibits a strong voltage-dependence such that during basal synaptic transmission, the inward current that generates the excitatory postsynaptic potential (EPSP) flows almost exclusively through the AMPA receptor. However when the postsynaptic cell is depolarized, the voltage-dependent block of the NMDA channel by extracellular magnesium is relieved so that now both NMDA and AMPA receptors contribute to the generation of the EPSP.

Induction of LTP occurs only when glutamate binds to NMDA receptors during sufficient postsynaptic depolarization so that a critical level of current flows through the NMDA channel into the postsynaptic cell. Unlike AMPA channels, NMDA channels are quite permeable to calcium (Ca^{2+}) and the NMDA mediated rise in postsynaptic Ca^{2+} is a necessary and perhaps sufficient trigger for inducing LTP. While the biochemical processes activated by Ca^{2+} and responsible for LTP have not been completely defined, Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) is one enzyme likely to play an important role.

SIMPOSIO

BIOTECNOLOGIA MARINA

Auspiciado por: Bios Chile I.G.S.A. y la Fundación Chilena para Biología Celular

Coordinador: Edith Hevia

Chile es un país rico en recursos naturales acuáticos que, además, gracias a su clima y su geografía ha implementado la acuicultura en la última década, siendo actualmente uno de los principales países productores de salmonideos. El desarrollo cada vez mayor del conocimiento básico y de técnicas biotecnológicas en el campo de la Biología Molecular, la Inmunología y la Fisiología entre otros, abre nuevas perspectivas ofreciendo soluciones a problemas propios de la utilización de estos recursos y creando, asimismo, nuevas fuentes de explotación.

La realización de este Simposio permitirá reunir a destacados investigadores, quienes desde ángulos diversos analizarán aspectos básicos y aplicados en esta área.

ANALISIS MOLECULAR DE PROLACTINAS Y HORMONA DE CRECIMIENTO DE TILAPIA. (Molecular Analysis of Tilapia prolactins and growth hormone). **Martial J.A., Swennen D., Rentier-Delrue F., Poncelet A-C., Sekkali B., Brim H. and Belayew A.** Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génie Génétique, Université de Liège, B-4000 SART-TILMAN, Belgique.

En teleósteos, la prolactina (Prl) y la hormona de crecimiento (GH) están involucradas en varios procesos fisiológicos, entre ellos, osmorregulación, crecimiento, reproducción, metabolismo, producción de mucus, etc.

Hemos informado previamente el clonamiento y caracterización de dos cDNAs de Prl y uno de GH de Tilapia. Estos cDNAs fueron usados en dos tipos de experimentos: La construcción de vectores de expresión de tiPrl y tiGH, y el aislamiento de los respectivos genes.

1. TiPrl-I, tiPrl-II y tiGH fueron producidas eficientemente en *E. coli* y purificadas casi hasta homogeneidad. Las proteínas recombinantes fueron probadas *in vivo* e *in vitro* y mostraron ser biológicamente activas.

2. Se aisló a partir de una genoteca de Tilapia los genes de tiPrl-I y tiGH. El material clonado posee además, 3.500 pb de su región 5'y fue secuenciado en su totalidad. Todos los genes de Prl y GH de mamíferos conocidos tienen 4 exones y 5 intrones. Este es el caso del gen tiPrl-I, sin embargo, el gen tiGH tiene un exón/intrón adicional.

Para estudiar la regulación de la transcripción de estos genes de peces, su región 5' fue analizada computacional y experimentalmente en la búsqueda de elementos reguladores cis. Los resultados de estos análisis serán discutidos en el Simposio.

CONTROL ENDOCRINO DE LA ESMOLTIFICACION EN LOS SALMONIDEOS: ASPECTOS FUNDAMENTALES Y APLICADOS. (Endocrine control of the Smoltification in Salmonids: Fundamental and applied aspects).
Boeuf, G. IFREMER Centre de Brest, BP 70, 29280 PLOUZANE, Francia.

La esmoltificación de los peces salmonídeos puede ser considerada como un fenómeno dinámico que ocurre al final de la estadía en agua dulce, preadaptando al salmón juvenil o "parr" a la vida y al crecimiento en ambiente marino. El pez se vuelve "smolt" y sufre profundos cambios morfológicos, citológicos, bioquímicos, fisiológicos, endocrinológicos y conductuales. El término de esta transformación condiciona y desencadena la migración activa hasta el océano.

Modificaciones endocrinológicas muy importantes ocurren y transforman el "parr" en "smolt", en sincronización con factores ambientales, como fotoperíodo y temperatura. Los cambios más decisivos son a nivel de la hipófisis (hormona de crecimiento y prolactina), la tiroides (hormonas tiroídeas) y el tejido interrenal (cortisol). Estas hormonas intervienen en el crecimiento, la osmorregulación, la respiración, la respiración, la excreción y en la conducta del pez.

Nos proponemos desarrollar los resultados principales, insistiendo particularmente en el rol de la Hormona de Crecimiento (GH) y los aspectos recientes de tratamientos que permiten acelerar el traspaso al agua de mar de peces en cultivo.

DESARROLLO DE INMUNOENSAYOS PARA DIAGNOSTICAR EL SINDROME DEL SALMON COHO. (Immunoassays Development for the Diagnostic of the Salmon coho Disease). M.I. Becker., De Ioannes A.E *. Bios Chile I.G.S.A., * Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica.

La acuicultura ha tenido un avance notable en Chile, porque existen condiciones geográficas, climatológicas y de medio ambiente que son óptimas para su desarrollo, tanto es así, que en 1995, se espera un nivel de producción de especies salmonídeas de 30.000 toneladas, con un retorno de US$180.000 millones. Si bien estas perspectivas son auspiciosas, una de las principales limitaciones para la consolidación de esta actividad, la constituyen los problemas sanitarios de los peces, agravada por la escasa información sobre la prevalencia e incidencia de los diferentes patógenos y la falta de un diagnóstico específico.

En la salud de los salmonídeos en Chile incide primero, que su producción depende de ovas traídas del hemisferio norte, donde las enfermedades más peligrosas son enzoóticas y segundo, la transmisión de algunas patologías por la fauna íctica silvestre, como sería el caso del Síndrome del salmón coho (*Oncorhynchus kitsutch*). Esta enfermedad reportada por primera vez en 1989, se caracteriza externamente por alteraciones del comportamiento, como anorexia y letargia. Al examen anatomopatológico, se observa líquido seromucoso en la vía digestiva y hemorragias difusas en las vísceras. Estudios recientes, muestran que es producida por una bacteria Gram negativa, perteneciente al Género *Rickettsiales*, que se caracterizan por ser parásitos intracelulares obligados.

En este trabajo, se presentan resultados sobre aspectos básicos de la etiología del Síndrome, relacionados con la identificación de componentes inmunodominantes del patógeno y de la respuesta inmune humoral contra ellos. Su caracterización, permitirá desarrollar y producir reactivos inmunológicos, basados en anticuerpos monoclonales, para su diagnóstico específico.

FINANCIADO POR PROYECTO CORFO Nº 91-006

LA ESTRATEGIA ADHESIVA DE MOLUSCOS BIVALVOS. (The Adhesive Strategie in bivalves molluskan). Burzio, L., Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La sobrevivencia de moluscos bivalvos del género mytilidos en el turbulento ambiente del litoral, radica en la adhesión de ellos a superficies rocosas a través del biso. De esta forma aprovechan de su habitat la riqueza en nutrientes y el alto intercambio gaseoso. El mecanismo de adherencia está mediado fundamentalmente por una proteína básica o proteína polifenólica (PP), la cual contiene alrededor de un 10% de residuos de dihidroxifenilalanina (DOPA). Nuestro laboratorio está estudiando las PP de mytilidos chilenos, tales como la cholga (*Aulacomya ater*), choro zapato (*Choromytilus chorus*), así como de otras especies. Las secuencias aminoacídicas de algunas PP muestran marcadas diferencias, lo que pareciera indicar distintas estrategias de adhesión. A pH neutro estas proteínas se adhieren irreversiblemente a una gran variedad de superficies orgánicas e inorgánicas. Esta propiedad permitiría el uso de las PP como excelentes "pegamentos" con aplicaciones en los campos de la medicina, odontología e industria. Se ilustrará el poder de adhesión de estas proteínas a probetas metálicas y se compararán con pegamentos sintéticos. También se discutirá el desarrollo de tecnologías para inmovilizar enzimas y otras proteínas de interés en superficies sólidas, mediante el uso de la PP.

(Financiado por la Sociedad de Tecnología Cono Sur, Valdivia).

SIMPOSIO: "DIVERSIDAD EN LOS MECANISMOS DE REGULACION DE LA EXPRESION GENICA"

Coordinador: Dr. Alejandro Venegas

"EDITING" DE mRNA MITOCONDRIAL DE PLANTAS Y ESTERILIDAD MACHO CITOPLASMICA (Plant mitochondrial mRNA editing and cytoplasmic male sterility). **ARAYA A., HERNOULD M., SUHARSONNO S., BEGU, D., MOURAS A. & LITVAK, S.**
Department of Replication and Expression of Eucaryotic and Retroviral Genomes. IBC-CNRS. Bordeaux. FRANCE.

RNA editing, the modification of some cytosine to uracil residues in plant mitochondrial (mt) mRNA, was studied in wheat organelles. cDNA and protein sequence analysis of the Fo-ATPase subunit 9 (*atp9*), showed that RNA editing is reflected at the translational level [1,2]. In vitro studies showed that wheat mitochondrial protein extracts catalyses C to U changes using a synthetic non-edited form of *atp9* mRNA[3]. Fractionation of the mitochondrial lysate on ion-exchange column indicates that several factors are involved in editing activity. Analysis of the edited product by TLC suggests that, in plant mitochondria, the editing reaction seem to operate via a deamination mechanism.

Non edited forms of the apocytochrome b (*cob*) transcripts were found in an alloplasmic cytoplamic male sterility (CMS) line of wheat. Moreover, *atp9* mRNAs were edited with a lower efficiency in the CMS line than in the parental isoplasmic fertile lines, while in an alloplasmic line restored to fertility by nuclear genes, *atp9* and *cob* transcripts were edited with the same efficiency than in fertile lines. Thus, nuclear genes might be involved in mt RNA editing. These results point out to a possible dysfunction of the mRNA editing machinery related to the CMS phenotype. We have speculated that the presence of proteins synthesized from unedited mRNAs may affect mitochondrial function creating conditions for impaired pollen production. To test this hypothesis, transgenic tobacco plants, carrying the edited and unedited coding sequences of wheat *atp9*, were obtained. Wheat mt *atp9* sequences were fused to a yeast *coxIV* transit peptide, under the control of the CaMV 35 S promoter. After transformation, plants containing unedited *atp9* exhibited a high percentage (50%) of individuals severely modified in their fertility. Approximately 19% of the plants were semi-fertile and 31% were completely sterile; controls containing edited *atp9*, or just the selection marker, gave fertile plants. Molecular data showed that the integrated gene is transcribed and translated. The protein is found associated with the mitochondrial fraction.

(1) Graves et al (1990) J. Mol. Biol. 214, 1. (2) Bégu et al. (1990) The Plant Cell, 2, 1283. (3) Araya et al. (1992) Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 89, 1040.

Work supported by the University of Bordeaux II, Le Conseil Régional d'Aquitaine, le CNRS and the Minisitère de la Recherche et de la Technologie.

MECANISMO MOLECULAR MEDIANTE EL CUAL EL RECEPTOR DE PDGF TRANSMITE SU SEÑAL MITOGENICA. (Molecular mechanism of PDGF signal transduction). Escobedo J.A., Fantl, W.J. and Williams, L.T. Cardiovascular Research Institute, University of California, San Francisco, CA 94143, USA.

El tratamiento de células de origen mesenquimal con PDGF induce una serie de cambios en su metabolismo lo que culmina en la división celular. Uno de los eventos más tempranos que suceden a la estimulación de células con PDGF es un cambio en la estructura del receptor (dimerización) lo que resulta en un incremento de la actividad tirosina quinasa del receptor.

Esta modificación tiene por objeto crear sitios en el receptor para su interacción con sustratos celulares involucrados en la transmisión de la señal mitogénica y regular, directa o indirectamente, la actividad de varias enzimas tales como: GTPase activating protein (GAP), fosfolipasa-C-gamma (PLC-γ), fosfatidil-inositol-3-quinasa.(PI-3-quinasa). Estas proteínas utilizan regiones homólogas a secuencias presentes en el proto-oncogén src (SH2 domains) para unirse al receptor.

Recientemente, hemos identificado secuencias en el receptor de PDGF que determinan los sitios de interacción de la PI-3-quinasa que involucra las tirosinas (Y708/Y719).

Similarmente, hemos determinado el sitio donde el receptor de PDGF interactúa con PLC-γ (Y977 y Y989) y GAP (Y739). La eliminación de estas tirosinas a través de mutaciones dirigidas nos ha permitido evaluar el rol que estas proteínas desempeñan en la transmisión de la señal mitogénica.

Tat Transactivation of the HIV-1 LTR. Selby, M.J., Ghosh, S. and Peterlin, B.M. Chiron Corporation and the Howard Hughes Medical Institute, University of California, San Francisco.

HIV-1 is the etiologic agent of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). HIV-1 is a retrovirus that contains several open reading frames in addition to the Gag, Pol and Env genes common to retrovirus. The generation of HIV-1 RNAs is complex as there are singly and doubly spliced RNAs, some of which are regulated by the HIV-1 Rev protein. Expression of the HIV-1 LTR is regulated by transcription factors that bind to the long terminal repeat (LTR) and also by a unique mechanism mediated by the Tat gene product. Tat, derived from a doubly spliced RNA, binds to a nascent stem-loop RNA structure that is at the 5' end of all HIV-1 messages. The interaction of Tat and this RNA structure is thought to allow for more efficient transcription elongation through the viral genome. We have been able to substitute the HIV-1 target sequence, TAR, with a heterologous bacteriophage MS2 RNA binding sequence followed by a reporter function, the chloramphenicol acetyl transferase gene (CAT). Additionally, we fused Tat with the protein with recognizes this heterologous sequence, the coat protein. Co-transfection of Tat-coat protein fusion with the substituted target recombinant resulted in the enhanced expression of CAT. Furthermore, mutations in the heterologous binding site that reduce the affinity of coat protein for the target RNA lead to decreased transactivations. These data demonstrate that the Tat target sequence is dispensable for transactivation and that the Tat-TAR interaction can be substituted with a heterologous RNA-protein interaction. Replacement of the TAR sequence with DNA-binding motifs 5' and 3' of the cap site and fusion of Tat to the cognate binding proteins leads to significant transactivation only when 6 binding sites are provided. We conclude that Tat functions most efficiently when presented via nascent RNA, where Tat is likely to bind as a monomer.

REGULACION DE LA EXPRESION GENICA INDUCIDA POR HERIDA EN PLANTAS. (Regulation of wound-induced gene expression in plants). Peña-Cortés, H. y Willmitzer, L. Institut für Genbiologische Forchung. Berlín, Alemania.

Las plantas reaccionan frente a ataques de insectos, microorganismos o herida activando un set de genes que juegan un importante rol en la prevención de una subsecuente invasión del patógeno, así como también en la reparación del tejido dañado. Algunos de estos genes son expresados en la vecindad del sitio de herida, mientras que otros son activados sistémicamente en los tejidos no heridos de la misma planta.

La familia génica de inhibidores de proteasa II (Pin2) de plantas de tomate y papa (inhibidores de tripsina y quimotripsina) representa uno de los mejores ejemplos de genes activados sistémicamente a través de herida. Los genes de Pin2 son expresados constitutivamente en los tubérculos de papa, así como en las flores de papa y tomate. Como resultado de una herida mecánica de las hojas, estos genes se inducen en el tejido directamente dañado (expresión local) y en el resto de la planta (expresión sistémica). Así, un factor o señal es liberado en el sitio de herida y transportado a través del sistema vascular de la planta hacia otros tejidos, induciendo la expresión génica. Plantas tratadas con las fitohormonas ácido abscísico (ABA) o ácido jasmónico (JA) muestran altos niveles de mRNA de Pin2 en ausencia de herida, lo que sugiere que éstas dos fitohormonas están involucradas en el mecanismo de respuesta a herida.

Utilizando plantas transgénicas de tomate y papa deficientes en ABA, transformadas con gen quimérico que consta del marcador génico GUS bajo el control de un promotor de Pin2, hemos podido comprobar que ABA participa en la inducción local y sistémica de los genes de Pin2. Por otro lado, inhibidores de lipooxigenasa, como también inhibidores de ciclooxigenasa inhiben la expresión de Pin2 inducida por herida. Determinación de la concentración endógena de ácido jasmónico desuestra que estos inhibidores bloquean el aumento de esta hormona observado normalmente después de la herida.

Como conclusión de los resultados obtenidos hasta ahora se presenta un posible mecanismo general para la regulación de genes inducidos por herida en plantas de tomate y papa.

SIMPOSIO
"BASES BIOLOGICAS EN LA COMUNICACION CELULAR"

Coordinador: Dr. Juan P. Huidobro Toro

QUIMIORRECEPCION CAROTIDEA DEL O_2 Y CO_2. (Carotid chemoreception of O_2 and CO_2). Iturriaga, R. Laboratorio de Neurobiología. Departamento de Ciencias Fisiológicas. P. Universidad Católica de Chile.

Torrance (1968; 1982) ha propuesto que la quimiotransducción del O_2 y del CO_2 en el cuerpo carotídeo (CC) estaría mediada por un mecanismo común: la hipoxia reduciría el pH intracelular (pH_i) disminuyendo la actividad de una bomba de HCO_3^-, mientras que el CO_2 formaría H_2CO_3 mediado por anhidrasa carbónica (AC). Varias observaciones ponen en duda este mecanismo común: 1) Los inhibidores de la fosforilación oxidativa bloquean las respuestas quimiosensoriales a la hipoxia, pero mantienen las respuestas al CO_2 (Lahiri et al, 1982). 2) Los registros del pH_i con métodos ópticos (BCECF) en CC perfundidos in vitro muestran que la hipoxia aumenta la descarga quimiosensorial sin modificar el pH_i, mientras que el CO_2-H^+ efectivamente disminuye el pH_i (Iturriaga et al, 1992). 3) Los registros de células glómicas (CG) muestran que la hipoxia no cambia el pH_i significativamente (Eyzaguirre et al, 1991). 4) Un inhibidor permeable de la AC retarda y disminuye la respuesta al CO_2-H^+, pero sólo retarda la respuesta al O_2 (Iturriaga et al, 1991). 5) La ausencia de CO_2-HCO_3^- en el medio de perfusión reduce y retarda la respuesta a la hipoxia, pero no la elimina (Iturriaga & Lahiri 1991). 6) Las CG presentan un canal de K^+ cuya conductancia disminuye selectivamente con la hipoxia y puede ser modulada por el pH_i (López-Barneo et al, 1988; Peers 1991). Estos resultados indican que la transducción del O_2 podría estar modulada pero no iniciada o mediada por cambios en el pH_i.

PAPEL DE LA MELATONINA EN LA REGULACION DE RITMOS ANUALES Y CIRCADIANOS. Dubocovich, M.L., Department of Pharmacology, Northwestern Univ, Med. Sch., Chicago, IL. 60611, USA.

La hormona melatonina es segregada principalmente por la glándula pineal y la retina siguiendo un ritmo circadiano, con niveles altos durante la noche. Este ritmo es endógeno y es regulado por la luz, la que inhibe la producción de la hormona a través de un circuito retino-hipotalámico que termina en el núcleo supraquiasmático, considerado el reloj del cerebro. En las especies fotoperiódicas la duración del período de oscuridad en las diferentes estaciones del año es medida a través de la secreción de melatonina. En la oveja y el hamster, los ritmos anuales de reproducción, cambio de pelaje y conducta son determinados por la duración del período de oscuridad (corto en verano, largo en invierno) que se correlaciona con el período de alta secreción de melatonina. La melatonina es considerada el mensajero de la oscuridad dado que traduce la información fotoperiódica en una respuesta fisiológica, a través de la activación de receptores localizados en núcleos hipotalámicos. Debido a esta propiedad, la melatonina es usada para inducir la reproducción temprana en especies con valor comercial que se reproducen normalmente cuando los días son cortos. La melatonina juega también un papel importante en la regulación de los ritmos circadianos en las aves y reptiles. En mamíferos, la melatonina sincroniza los ritmos a un período de 24 horas. Esta propiedad de la melatonina es usada para aliviar la desincronización interna debida a cambios de zona horaria o de turnos de trabajo. En esta presentación discutiré el papel de los receptores a la melatonina localizada en el cerebro que participan en la regulación de los ritmos anuales y circadianos.

COMUNICACION CELULAR, ADAPTACION AL MEDIO EXTERNO Y LA REGULACION DEL MEDIO INTERNO (Cell communication: adaptation of the external environment and the regulation of the "internal mileu"). Huidobro-Toro, J. Pablo, Unidad de Regulación Neurohumoral, Depto. de Fisiología, F. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Es probable que el paso evolutivo de organismos unicelulares a pluricelulares implican un alto grado de comunicación con el medio ambiente y entre las células de los primeros individuos multicelulares. Es posible que los canales iónicos, y los transportadores tuvieran un rol muy significativo en la comunicación celular primigenia. La comunicación entre células-basadas en mensajeros ya sea feromonas, hormonas, neurotransmisores alcanzó un grado de sofisticación adicional al implicar que una célula adquiere la propiedad de sintetizar, almacenar y liberar una señal biológica, la que será reconocida por una célula blanco. Esta señal mediante receptores especializados alojados en la membrana plasmática, en el intracelular o en núcleo, inicia una serie de eventos que llamamos la respuesta fisiológica. La célula responde con una compleja coordinación metabólica temporo-espacial particular de cada tejido. La sofisticación adquiere características de relieve en el sistema nervioso, donde reconocemos que la neurona puede liberar más de un mensajero simultáneamente. La cotransmisión condiciona una forma de neurorregulación, además de establecer complejas interacciones a nivel de la membrana postsináptica. Se discutirá la cotransmisión simpática con énfasis en nuestros estudios en las neuronas simpáticas del conducto deferente. Se descubrió la co-liberación de noradrenalina (NA), adenosina 5' trifosfato (ATP) y neuropéptido tirosina (NPY). NA y ATP ejercen una acción motora coordinada movilizando aparentemente compartimentos de Ca^{2+} diferenciales sensibles a dihidropiridinas (NA y ATP) y rianodina (sólo NA). NPY activa receptores presinápticos regulando la liberación de NA y ATP.

Proyectos FONDECYT 0748/91 y 658/92.

ESTRUCTURA Y FUNCION DE LOS CANALES IONICOS ACTIVADOS POR LIGANDOS (Structure and function of ligand-gated ion channels). R. Adron Harris, Dept. Pharmacology, Univ. Colorado Sch. Medicine, Denver, CO 80262 USA.

En el cerebro, la mayoría de la transmisión neural excitatoria e inhibitoria es llevada a cabo por medio de canales iónicos activados por ligandos. El neurotransmisor excitatorio más importante es glutamato y el neurotransmisor inhibitorio más importante es GABA. Otros neurotransmisores como la acetilcolina, serotonina y ATP también actúan a través de canales iónicos en el cerebro y en el sistema nervioso periférico. El desarrollo más espectacular en nuestro entendimiento de estos canales ha sido producido con técnicas de la biología molecular. La codificación de los genes por medio de la secuencia y clonización de las proteínas que forman los canales iónicos y la expresión de estos canales -en oocitos Xenopus o en células cultivadas- como resultado de la inyección de cDNA y cRNA han revolucionado el estudio de la acción de los neurotransmisores y las drogas. Los canales iónicos están compuestos de subunidades múltiples- comunmente cinco- de proteínas insertadas en la membrana de la célula que forman la cavidad que actúa como canal. Sin embargo, hay diferentes proteínas codificadas por genes distintos, que pueden expresarse en una determinada célula y utilizarse para formar el canal pentámero. Esto permite un número tremendo de receptores, cada uno de ellos compuesto con subunidades distintas. Hay dos preguntas claves: ¿cómo se regulan estas subunidades? (los efectos de la edad, genética, ambiente, etc. en la expresión de subunidades) y la importancia de la composición de las subunidades en la regulación de la sensibilidad a los neurotransmisores y drogas. Por último, algunas de las subunidades de los canales iónicos pueden ser fosforilizadas por kinasas como la cAMP kinasa, la tirosina kinasa, y la proteína kinasa C y su función puede ser regulada por esta fosforilización. En conclusión, estudios moleculares han demostrado una diversidad inesperable en el número de subunidades distintas que dan estructura a los canales iónicos ligados, esto proporciona una oportunidad maravillosa para conducir estudios farmacológicos y estudiar sus usos médicos.

Trabajos de incorporación

I

RECEPTORES A1 Y A2 DE ADENOSINA (ADO) EN LA VEJIGA: PAPEL MODULADOR DE ADO EN LA NEUROTRANSMISION NO ADRENERGICA NO COLINERGICA (NANC). (A1 and A2 adenosine (ADO) receptors in the bladder: modulatory role of ADO in the non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission). Acevedo,C.G. Departamento Fisiología, Universidad de Concepción (Patrocinio: Huidobro-Toro, J.P.)

El trifosfato de adenosina (ATP) es uno de los neurotransmisores de la vejiga de algunos mamíferos, el que es metabolizado rápidamente a adenosina (ADO) por la acción de ectonucleotidasas de este tejido. En este trabajo se estudia el posible papel de la ADO como regulador endógeno de la neurotransmisión NANC y las características de los receptores comprometidos en este papel modulador. Se analiza también la existencia de una actividad tónica de la ADO sobre la neurotransmisión de la vejiga de ratón.

Se utilizaron vejigas de ratón superfundidas con solución Ringer-Krebs a 37°C, en presencia de 1uM atropina y de 3.4uM guanetidina, estimuladas eléctricamente o mediante el agregado de ATP al medio.

La ADO y los nucleósidos relacionados, redujeron la actividad motora inducida por la estimulación eléctrica transmural de la vejiga con la siguiente potencia relativa:R-PIA > CHA > NECA > ADO > S-PIA. La contracción producida por ATP exógeno fue igualmente antagonizada, con el orden de potencia por ADO análogos estructurales: NECA > 2-Cloro ADO > R-PIA > ADO > CHA > S-PIA. NECA mostró también una acción inhibidora sobre las contracciones ejercidas por serotonina, acetilcolina y prostaglandinas F2α. La 8-fenilteofilina (8-PT), antagonista de ADO, redujo el efecto inhibidor de NECA. El dipiridamol, inhibidor del transporte de ADO, redujo la respuesta neurogénica, en tanto que la 8-PT efectuó la acción opuesta. Las evidencias farmacológicas señalan la existencia de receptores A1 y A2 en la vejiga y apoyan la hipótesis de la existencia de un papel modulador endógeno de ADO en este órgano.

FONDECYT 676/90 y 658/92 y Direc.de Inv.Univ.de Concep. 92.33.63-1

II

ORGANIZACION ESTRUCTURAL DE LAS YEMAS DE RENUEVO Y SU IMPLICANCIA EN LA SOBREVIVENCIA DE VASTAGOS EMBRIONARIOS

R. Ginocchio y G. Montenegro
Depto. de Ecología, P. Universidad Católica de Chile.
Casilla 114-D Santiago.

Las yemas de renuevo de los arbustos del matorral de la Zona Central constituyen las estructuras a partir de las cuales se reinicia el crecimiento vegetativo después del período de receso impuesto por el estrés hídrico durante el verano y otoño. Los meristemas de estas yemas son responsables de generar las estructuras del dosel, siendo así relevantes para la continuidad del crecimiento en el tiempo. En la mayoría de las especies leñosas del matorral las yemas de renuevo se encuentran preformadas, por lo que se habrían generado estructuras morfológicas y citológicas, las cuales asegurarían su sobrevivencia al evitar la pérdida de agua y limitar el efecto de la alta temperatura y radiación solar incidentes durante el período de receso vegetativo.

En este trabajo se cuantificó la importancia relativa de estructuras morfológicas y citológicas descritas en las yemas de renuevo de especies dominantes del matorral. Se probó experimentalmente la importancia del follaje y/o de las escamas como estructuras que al disminuir el efecto de factores abióticos, tales como la alta radiación solar y la sequía edáfica y atmosférica, aseguran la sobrevivencia de los vástagos embrionarios contenidos en las yemas de renuevo.

El índice de similitud de X^2 con corrección de Yates, indicó que las estructuras morfológicas tendrían una mayor importancia relativa que las estructuras citológicas. Para las variables respuesta porcentaje de brotación y biomasa total generada por las yemas de renuevo, no se encontró diferencias significativas entre mantener o eliminar las escamas para distintas formas de vida. Se encontró diferencias significativas en las variables respuesta para el factor hoja, siendo menor el porcentaje de brotación y la biomasa generada cuando las hojas fueron eliminadas.

Se discuten los resultados en términos de la importancia que habrían tenido factores abióticos y bióticos (herbivoría) como parámetros importantes de presión evolutiva para la vegetación de Chile Central.

Trabajo financiado por el proyecto FONDECYT 747/91 a G. Montenegro. R. Ginocchio es becaria de la Fundación Andes.

III

CONCENTRACION DE RECURSOS: EFECTO DEL TAMAÑO DEL PARCHE SOBRE LA DENSIDAD Y DIVERSIDAD DE INSECTOS HERBIVOROS. (Resource concentration hypothesis: effect of patch size on the density and diversity of herbivorous insects). Grez A. A. Depto. de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Patrocinio: Dr. Juan Armesto).

La hipótesis de concentración de recursos (Root 1973) postula que los insectos herbívoros especialistas serían más abundantes en parches vegetacionales grandes, debido a que los encontrarían con mayor facilidad y permanecerían en ellos por mayor tiempo. Además, los insectos herbívoros serían menos diversos en este tipo de parches por la monopolización del recurso por parte de unas pocas especies. En este trabajo se pone a prueba esta hipótesis.

Entre agosto de 1989 y enero de 1990 se analizó la respuesta numérica de insectos herbívoros en parches de 4, 16, 64 y 225 plantas de Brassica oleracea var. capitata. Además se estudió la inmigración y emigración de juveniles y la colonización de adultos de Plutella xylostella (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) en los distintos parches.

Ni las densidades totales de herbívoros, ni las específicas difieren entre parches. Las diversidades son menores en parches más pequeños, debido a la menor riqueza de especies. Las larvas de P. xylostella no migran entre parches y los adultos colonizan por igual parches de distinto tamaño.

La hipótesis de concentración de recursos sería organismo-dependiente, cumpliéndose sólo para insectos con capacidad de dispersión limitada en relación a la escala espacial del parchamiento.

FONDECYT 1173/92

IV

Desplazamientos diarios de Odontesthes bonariensis (Valenciennes) en el embalse Rapel (Pisces: Atherinidae). (Daily migrations of Odontesthes bonariensis in Rapel reservoir). Contreras, M. y I. Vila. Departamento Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

Movimientos diarios de Odontesthes bonariensis desde la zona litoral a la pelágica, fueron observados en el embalse Rapel. Durante la noche aumenta la abundancia de peces en la zona litoral, concentrados en los estratos más superficiales de la columna de agua. Por el contrario, durante el día los peces estan agregados en los estratos de mayor profundidad de la zona pelágica. Los cambios en la distribución espacial diaria de O. bonariensis, son el resultados de desplazamientos horizontales nictimerales realizados entre ambas zonas, siendo más frecuentes durante el crepúsculo.

La distribución espacio-temporal del alimento y las condiciones hidrodinámicas del cuerpo de agua son los factores determinantes de este patrón en el Embalse Rapel. Su distribución heterogénea estimularía la realización de desplazamientos diarios de O. bonariensis, como una forma de optimizar el uso de la energía.

Financiamiento Fondecyt 1074/91 y DTI B 3049

V

EL EFECTO INHIBITORIO DEL NEUROPEPTIDO Y (NPY) SOBRE LA NEUROTRANSMISION DEL CONDUCTO DEFERENTE (CD) ES MODULADO POR LA EDAD Y EL ESTADO HORMONAL DE LA RATA (Age and castration modulate the inhibitory action of NPY on neurotransmission in the rat vas deferens). Marcela Bitrán. Unidad de Regulación neurohumoral, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: J.P.Huidobro-Toro).

Para determinar si la acción inhibitoria del NPY sobre la neurotransmisión del CD es regulada por el estado endocrino del animal, estudiamos la acción del NPY sobre la contracción neurogênica del CD de ratas de distintas edades postnatales y de ratas adultas castradas y castradas tratadas con Testosterona (T). El CD se seccionó en sus mitades epididimarias (E) y prostáticas (P), en las que se estudió: a) Contracción muscular inducida por estímulo eléctrico (0.15 Hz, 70V, 1ms) en ausencia o presencia de NPY. b) Contenido tisular de NPY. La potencia de NPY para inhibir la contracción neurogênica en E disminuye con la edad, siendo 20 veces menor en la rata adulta (IC_{50} 1000 nM) que en la de 26 días (IC_{50} 42 nM). La sensibilidad de P a NPY no cambia marcadamente con la edad. Los niveles circulantes de T en animales de 26 días son significativamente menores que los de animales adultos. La castración reduce el contenido de NPY en E y P; no modifica la sensibilidad a NPY en P, aumentándola en E (IC_{50} 38 nM). La administración de T revierte los cambios de sensibilidad a NPY producidos por la castración. En consecuencia, la acción de NPY sobre las neuronas simpáticas del CD es regulada por el estado hormonal, el que afecta diferencialmente los extremos E y P.

Proyecto FONDECYT 0767/90 y 0748/91.

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

BIOQUIMICA I

71

HIDROLISIS DE FOSFOINOSITIDOS EN MEMBRANAS DE OOCITOS DE *Xenopus laevis*. CARACTERISTICAS DE LA ACTIVIDAD FOSFOLIPASA C. (The hydrolysis of phosphoinositides in membranes of *Xenopus laevis* oocytes. Characteristics of the phospholipase C activity.) Jacob, G. Depto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

Nuestro interés está centrado en el estudio del metabolismo de fosfoinosítidos e inositol fosfatos en el oocito de *Xenopus laevis*, puesto que esta célula es ampliamente utilizada para estudiar la función de dichos compuestos en la transducción de señales externas como hormonas y neurotransmisores, y en la movilización de Ca^{++}. Trabajando con una preparación de membranas aisladas de oocito, hemos encontrado actividad fosfolipasa C que hidroliza fosfatidilinositol (PtdIns), fosfatidilinositol 4-monofosfato (PtdIns P) y fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PtdIns P_2), con la consiguiente generación de los inositol fosfatos respectivos: inositol 1-fosfato, inositol 1,4-bisfosfato e inositol 1,4,5-trisfosfato. La actividad hidrolítica es mayor con PtdIns P_2. La hidrólisis de PtdIns P_2 es absolutamente dependiente de Ca^{++}, obteniéndose la máxima actividad con Ca^{++} 50 µM. Con PtdIns, existe una actividad basal en ausencia de Ca^{++} y aumenta al doble en presencia de Ca^{++} 100 µM. Mg^{++} no tiene efecto. Hemos observado que esta actividad fosfolipasa C aumenta al doble en la presencia de ácido fosfatídico 200 µM y utilizando PtdIns como sustrato. La acción de este compuesto parece ser específica, puesto que otros fosfolípidos, tales como fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina y fosfatidilglicerol no presentan tal efecto. La actividad enzimática, usando PtdIns, es afectada por poliaminas: espermidina aumenta la actividad en un 50% a 2 mM; espermina activa en un 35% a 500 µM, mientras concentraciones mayores de 2 mM son inhibidoras. Polilisina estimula también la actividad, aumentándola en un 65% a 700 µM.

(Apoyado por FONDECYT y The Council for Tobacco Research.)

72

PROTEASA CALCIO DEPENDIENTE EN MUSCULO PEDAL DE Concholepas concholepas QUE DEGRADA PROTEINAS MIOFIBRILARES. (Calcium dependent protease in foot muscle of Concholepas concholepas, that degrades myofibrillar proteins). Díaz, F., Enríquez, S., y Sánchez, L. Departamento de Biología Molecular, Facultad Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

En retículo sarcoplásmico pesado (RSP) de músculo pedal de C. concholepas obtenido mediante gradiente discontínuo de sacarosa, hemos caracterizado una proteasa neutra dependiente de calcio (PDC), de grupos SH y de alto peso molecular (417 Kda).

En este estudio se muestra la actividad de PDC sobre proteínas miofibrilares del mismo tejido.

La obtención de las proteínas miofibrilares se realizó mediante suspensión de un homogenizado de músculo siguiendo la metódica de Mykles y Skinner (1982) Dev. Biol. 92 (286-397). El pellet obtenido por centrifugación constituye las proteínas miofibrilares que fueron analizadas por PAGE-SDS. PDC se incubó con dichas proteínas a distintos tiempos en presencia y ausencia de EGTA. La degradación fue demostrada por PAGE-SDS y los productos solubles en ácido tricloroacético fueron medidos con ninhidrina, fluorescamina y HPLC.

Por PAGE-SDS se observó degradación preferencial de miosina (cadena pesada), paramiosina y tropomiosina. Troponina I y actina fueron degradadas a tiempos más largos. Los productos solubles en ácido tricloroacético aumentaron progresivamente en el tiempo. EGTA inhibió la degradación.

Estos resultados indican que PDC del RSP degrada las principales proteínas contráctiles, a diferencia de la PDC de músculo esquelético de vertebrados que no es activa sobre miosina ni actina. Los resultados apoyan su función en el recambio de proteínas miofibrilares y aporte de aminoácidos al metabolismo muscular.

Tesis de postgrado financiada por Departamento de Biología Molecular, Universidad de Concepción.

73

EFECTO PROTECTOR DE ALGUNOS CAROTENOS SOBRE LA OXIDACION DE LDL HUMANA *IN VITRO*. (Protection *in vitro* oxidation of human LDL by some carotenoids). Miquel A. Laboratorio De Citología Bioquímica y Lípidos, Facultad Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: F.Leighton).

Numerosas evidencias indican que la aterogénesis está asociada a reacciones mediadas por radicales libres y a peroxidación lipídica, que se reflejan en modificaciones oxidativas de las LDL. Esto ha dado lugar a la teoría oxidativa de la aterogénesis que establece que las LDL modificadas oxidativamente se hacen aterogénicas.
La suplementación de la dieta con aceite de pescado ha sido muy difundida para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Estos aceites son ricos en los ácidos grasos EPA y DHA, a los que se atribuye el efecto protector a través de la modificación de varias vías metabólicas, sin embargo, estos ácidos grasos son incorporados a las lipoproteínas y por ser poliinsaturados son altamente susceptibles de ser oxidados o peroxidados. Surge así la necesidad de conocer qué antioxidantes pueden protejer las LDL ante un estres oxidativo.

ß-caroteno y otros carotenoides son antioxidantes que se cree pueden reducir el riesgo de artereoesclerosis y de algunos cánceres, sin embargo, las recomendaciones dietarias sólo enfatizan su rol precursor de vitamina A. En nuestro laboratorio hemos estudiado el efecto protector del ß-caroteno (Roche) y del licopeno (extraído de tomate) sobre la oxidación *in vitro* de LDL mediada por cobre. Estos antioxidantes fueron incorporados a LDL *in vitro*, aumentándose 2.5 a 3 veces los niveles basales de ß-caroteno y 2 a 2.5 veces los niveles basales de licopeno. Los niveles plasmáticos basales de ß-caroteno y licopeno dependen en forma marcada del aporte dietario. Se evaluó la oxidación de LDL por la desaparición de sus antioxidantes y por la aparición de productos de oxidación de sus ácidos grasos (dienos conjugados, TBARS, Hidroperoxidos). Las LDL enriquecidas con ß-caroteno y con licopeno se hicieron más resistentes a la oxidación.
(Financ.FONDECYT 732/91 y FONDECYT 98/92)

74

DETECCION DE LA ACTIVIDAD DE LA PROTEINA TRANSPORTADORA DE ESTERES DE COLESTEROL (CETP). UN FACTOR DE RIESGO DE ENFERMEDAD CORONARIA. (Detection of the CETP activity. A risk factor in the coronary heart disease). Catalán, L., Acosta, A.M., Arteaga, A. y cols. Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos y Laboratorio de Nutrición. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: L. Vargas F.).

Estudios en familias que tienen deficiencia de CETP sugieren que una actividad de CETP disminuída, produce un perfil lipídico de tipo antiaterogénico, vale decir niveles plasmáticos altos de HDL (lipoproteína de alta densidad), HDL_2 y bajos de LDL (lipoproteína de baja densidad) Nuestro objetivo fue montar un ensayo para evaluar la capacidad de transferencia de esteres de colesterol en humanos. Se optimizó un ensayo isotópico por ser más rápido y eficiente. El ensayo isotópico de transferencia consiste en la incubación de HDL y LDL, una de las cuales se encuentra radiomarcada con ^{3}H-CE (colesterol ester) o ^{14}C-CE, y CETP (purificada parcialmente) de distintos individuos. En la literatura se han descrito tres diferentes métodos de determinación de la actividad de CETP: mediante la marcación de LDL, marcación de HDL_2 purificada y marcación de HDL_2 vía HDL_3. Se evaluaron estos tres métodos de marcación de lipoproteínas encontrándose que la marcación de HDL_2 vía HDL_3 es el método más efectivo. Una vez que se optimizó la etapa de marcación se centró el estudio sobre la forma de separación de las diferentes lipoproteínas presentes en el medio de ensayo. Para este efecto existen varios métodos de precipitación selectiva que utilizan diferentes agentes precipitantes como son: dextran sulfato-Mg^+ (DS-Mg^+), acido fosfotúngstico-Mg^+ (FT-Mg^+) y heparina-Mn^+ (HEP-Mn^+), encontrándose que este último es el más efectivo. Ensayando la actividad de CETP en individuos normales se comprobó que presentan un rango de transferencia promedio de 70-75% de radioactividad por hora y por ml de plasma. Actualmente se están evaluando plasmas de pacientes que han sufrido algún tipo de enfermedad coronaria.
Financiado por proyectos Fondecyt 732/91 y 98/92.

75

CAMBIOS DE LA ACTIVIDAD APIRASICA DE GLANDULA MAMARIA DURANTE EL CICLO PREÑEZ-LACTANCIA (Apyrase activity during the pregnancy-lactation-cycle). Gallequillos, M. y Chayet, L. Depto Bioquímica y Biología Molecular. Fac Ciencias Quím. y Farmacéuticas. Univ. Chile.

Nuestro Laboratorio busca la función fisiológica de la ATP-difosfohidrolasa o apirasa. Con este objeto, se observaron posibles cambios en su actividad en el ciclo preñez-lactancia de glándula mamaria de rata.

Se determinó la actividad ATPasa-ADPasa, característica de esta enzima, expresada como unidades por g de tejido y por mg de DNA a lo largo del ciclo. Durante la preñez (período de proliferación celular) hubo un aumento de esta actividad, siendo éste no más del doble, dependiendo de la forma de expresarla. Como marcadoras de estos estados se utilizó la lactosa sintetasa y la γ-glutamiltranspeptidasa, que aumentaron en forma considerable en la lactancia respecto a virginidad.

Se efectuaron estudios *in vitro* utilizando explantes de glándula mamaria extraídas en mediana preñez los que se diferenciaron a seudolactancia con insulina-prolactina-cortisol. En estos experimentos no se observó cambios de la actividad ATPasa-ADPasa a diferencia de las dos enzimas marcadoras de lactancia. Estos resultados requieren de mayores estudios para poder interpretarlos.

Se encontró en este tejido una proteína soluble activadora de la apirasa que también ha sido descrita en otros tejidos. La presencia de una proteína moduladora de la apirasa, sugiere que estaría sometida a regulación de tipo cinético.

Financiado por Proyecto Fondecyt 90-1006.

76

ESTUDIOS PRELIMINARES DE LA FUNCION Y DEL SITIO ACTIVO DE LA ATP-DIFOSFOHIDROLASA DE GLANDULA MAMARIA. (Preliminary studies of the function and on the active site of mammary gland ATP-diphosphohydrolase). Alvarez, A. y Collados, L. Depto Bioq. y Biol. Molec. Fac. Cs Qcas y Farm. U. Chile. (Patrocinio: M.A. Valenzuela).

Nuestra investigación está dirigida hacia el conocimiento de la función fisiológica de la ATP-difosfohidrolasa (apirasa) y, hacia la caracterización comparativa de esta enzima de animales y plantas.

Para la búsqueda de la función de esta enzima en glándula mamaria estudiamos su localización subcelular en tejido de rata. Los resultados obtenidos mediante una gradiente discontínua de sacarosa indican que la apirasa está asociada a la fracción de membrana enriquecida en 5'-nucleotidasa. Esta ubicación en membrana plasmática sugiere que su función se podría relacionar con el metabolismo extracelular de los nucleotidos. La acción conjunta de la 5'-AMPasa y apirasa daría cuenta de la reincorporación a la célula de los respectivos nucleosidos.

Se presentan además estudios preliminares de modificación química sobre los posibles aminoácidos del sitio activo. No tiene grupos -SH esenciales en forma análoga a otras apirasas; tampoco grupos carboxílicos en sitio activo. Entre los aminoácidos de unión de la base púrica o pirimidínica parecen estar involucrados *Tyr* y *Trp*. La *Arg* por su parte neutralizaría la carga negativa de los grupos fosfatos. Y como residuos catalíticos podría participar *His*.

Grants Fondecyt 90-1006 y U. Chile PG 029-92.

77

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR CANCERIGENOS PUROS Y EXTRACTOS ORGANICOS DEL AIRE DE SANTIAGO SOBRE DIVERSAS ISOENZIMAS CITOCROMO P-450. (Comparative study of the effects produced by pure carcinogens and organic extracts from Santiago's air on several cytochrome P-450 isozymes). Quiñones-Sepúlveda, L. García, C., Shackleton, G. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile and Molecular Toxicology Res. Group, University of Surrey, England. (Patrocinio: L. Gil).

El sistema de monooxigenasas ha sido objeto de numerosos estudios para comprender la especificidad de cada una de sus numerosas isoenzimas P-450 en la oxidación de compuestos, ya sea exógenos (xenobióticos) o endógenos (ácidos grasos, esteroides y prostaglandinas). El rol de las isoenzimas componentes de este sistema en la metabolización de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) presentes en extractos orgánicos del material particulado del aire (EOMPA) ha sido intensamente investigado en nuestro laboratorio. Es así como se ha determinado la especificidad de la isoenzima P-450 IA1, para metabolizar principalmente compuestos orgánicos con potencial carcinogénico. En este trabajo, estudiamos el efecto producido por los HAPs, nitroarenos y diferentes EOMPA (fracción total y fracción respirable) sobre algunas isoenzimas del sistema P-450 de microsomas de hígado de rata. Ratas Wistar, 35 días de edad fueron inyectadas con: EOMPA de Santiago (previamente cuantificados por HPLC), extractos provenientes de la emisión de un motor diesel (EEMD) y los HAPs puros Benzo(a)pireno (BaP), 1-Nitropireno (1-NP) y 2-Nitrofluoreno (2-NF). A las 48 horas los animales fueron sacrificados y se ensayaron in vitro las siguientes actividades: Etoxiresorufina O-desetilasa (EROD), Pentoxiresorufina O-desetilasa (PROD) y p-nitrofenol oxidasa (PNPO), las cuales son catalizadas por las isoenzimas Citocromo P-450 IA1, P-450 IIB1 y P-450 IIE1, respectivamente. Experimentos de inmunodetección se realizaron para las formas P-450 IA1 y P-450 IIE1. Las muestras administradas produjeron los siguientes efectos: a) aumento en el contenido total de citocromo P-450 y desplazamiento a menores longitudes de onda del pico de máxima absorción del complejo P-450 reducido-CO, salvo en el caso del 2-NF, b) aumento en la actividad EROD y en la cantidad de la isoenzima P-450 IA1 según análisis de Western Blot, c) disminución de la actividad PROD por EEMD e incremento en esta actividad por BaP y 1-NP, d) disminución de la actividad PNPO salvo con los EEMD. La disminución de la actividad PNPO se correlacionó con una disminución en el contenido de la isoenzima P-450 IIE1 por Western blot solo para el 3-MC y el BaP. Estos resultados sugieren que los HAPs y nitroarenos presentes en el material particulado del aire de Santiago provocan alteraciones en algunas isoenzimas P-450 que metabolizan xenobioticos, estos cambios podrían ser importantes en la expresión de la actividad mutagénica y carcinogénica. (Fondecyt 1314-91, OEA 03-91-52B-290-CHI y British Council).

78

STRESS OXIDATIVO PRODUCIDO POR EXTRACTOS ORGANICOS DEL MATERIAL PARTICULADO DEL AIRE DE SANTIAGO. (Oxidative stress produced by organic extracts from Santiago's airborne particles). Fuentes, O., Lastra, A. y Gil, L. (Departamento Bioquimica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile)

Trabajos previos de este laboratorio han demostrado actividad mutagenica en extractos organicos del material particulado del aire de Santiago, la que se deberia a la acción de hidrocarburos aromaticos policiclicos (HAPs) y sus derivados, especialmente nitroarenos. Los HAPs no sustituidos requieren de activacion metabolica para ejercer actividad mutagenica, en tanto que los nitroarenos presentan mutagenicidad directa, la que podria estar mediada en parte por intermediarios toxicos del metabolismo del oxigeno (H_2O_2, $OH^{\bullet}$, $O_2^{\bullet -1}$, $O^{-}{}_2$).

Con el objeto de evaluar el efecto de extractos organicos de la fraccion particulada del aire de Santiago sobre el sistema de defensa antioxidante hepático, se inyectaron ratas machos (40 mg/Kg peso i.p.) con extractos organicos de comprobada mutagenicidad, segun test de Ames, pero teniendo uno de ellos mayor mutagenicidad directa (E-239) que el otro (E-252).

Despues de 48 horas los animales fueron sacrificados e inmediatamente se midio el nivel de lipoperoxidacion como sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico (SR-ATB) y el nivel de GSH utilizando ácido ditionitrobenzoico. En sobrenadantes 5.000 g x 10 min. se determino espectrofotometricamente la actividad de catalasa y glutation peroxidasa utilizando como sustrato H_2O_2 y t-BOOH, respectivamente.

Los resultados de este estudio muestran que ambos extractos disminuyen significativamente el nivel de GSH, siendo mayor este efecto con el extracto E-239. El extracto E-239 aumenta el nivel de catalasa hepatica ($P < 0.001$) y disminuye la actividad de glutation peroxidasa ($P < 0.02$), la cual tambien tiende a disminuir con el extracto E-252. No se aprecian variaciones significativas en el nivel de SR-ATB.

Se concluye que la fraccion organica del aire particulado de Santiago produce "stress oxidativo" hepático, siendo mayor este efecto con extractos con mayor mutagenicidad directa, probablemente a causa de un mayor contenido de nitroarenos.

(Financiado por Proyectos FONDECYT 1314/91, OEA 03-91-52B-290-CHI y Consejo Britanico).

79

PARTICIPACION DE LOS RADICALES LIBRES DERIVADOS DEL OXIGENO EN EL DAÑO HEPATICO EN RATAS SOMETIDAS A SHOCK POR TORNIQUETE.(Oxygen-derived free radical involvement in hepatic tissue damage of rats subjected to tourniquet shock)
Maldonado, M., Ward, P.H. Departamentos de Fisiopatología y de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

Con anterioridad hemos demostrado en un modelo estandarizado de shock por torniquete estrés oxidativo hepático una vez liberado el torniquete, y que estas alteraciones podían ser revertidas con la administración previa de agentes antioxidantes. El presente trabajo tiene como objetivo investigar la posible asociación de estas alteraciones con cambios de la función hepática y si dichos cambios son mediadas por radicales libres derivados del oxígeno.

Con este fin, ratas Sprague Dawley fueron sometidas a torniquetes bilaterales durante 5 hrs y dos horas después de liberado el torniquete se determinó el nivel sérico de las transaminasas, (aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa). Se realizó una infusión continua de bromosulftaleína (BSP), por la arteria yugular (en dos períodos: 25 mg/ml por 60 min y 37,5 mg/ml por 30 min) y se determinó la concentración de BSP en muestras de bilis recolectadas cada 10 min mediante un cateter colocado en el colédoco. Un grupo de animales recibieron 2 hrs antes de la aplicación del torniquete, superóxido dismutasa, catalasa y DMSO (20 mg/Kg, 40 mg/Kg y 1,25ml/Kg).

El grupo de animales sometidos a torniquete y a 2 hrs de reperfusión evidenciaron un aumento significativo de las transaminasas séricas asociado a una disminución del flujo biliar (24%) y del transporte máximo de BSP (TmBSP, 32%) respecto del control.Tanto el aumento de las transaminasas, así como la disminución del flujo biliar y del Tm BSP fueron revertidos parcialmente con la administración previa de sustancias antioxidantes

Estos resultados apoyan la hipótesis de que los radicales libres derivados del oxígeno juegan un rol importante en el daño hepático observado en ratas sometidas a shock por torniquete.

PROYECTO FONDECYT 92-0283

80

PARTICIPACION DE LOS RADICALES LIBRES DERIVADOS DEL OXIGENO EN EL DAÑO HEPATICO DE RATAS SOMETIDAS A SHOCK POR ENDOTOXINA. (Oxygen-derived free radical involvement in hepatic damage of rats subjected to endotoxic shock).
Manriquez, V., de la Fuente G., y Vivaldi, E. Departamento de Fisiopatologia, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Con el objeto de explicar la etiopatogenia del síndrome de shock, hace algunos años hemos iniciado el estudio de alteraciones bioquímicas en diferentes modelos de shock. El presente trabajo tiene como objetivo analizar alteraciones hepáticas en un modelo de shock inducido por endotoxina.

Con este fin,ratas Sprague Dawley fueron separadas en tres grupos: Grupo Control fue sometido a operación ficticia; de los dos grupos restantes, el grupo I recibió 2 hrs antes, superóxido dismutasa (SOD 20 mg/k peso y el otro, solución salina (GrupoII). Tanto el grupo I como el II reciberon endotoxina bacteriana de E. Coli (Etox,10 mg/k peso), dos horas después de la inoculación de Etox se determinó el nivel de glutatión (GSH) y de malondialdehido (MDA) en tejido hepático, así como de transaminasas séricas (alanina aminotransferasa Alt, y aspartato aminotransferasa Ast).A algunos animales de estos tres grupos se les realizó un registro continuo de la presión arterial sistémica

Dos horas post inyección de Etox se observó un estrés oxidativo en el grupo II evidenciado por una disminución significativa del GSH y por un aumento del MDA en el tejido hepático. Estas alteraciones se acompañaron de un aumento significativo tanto de la Alt como de la Ast séricas. Estas alteraciones bioquímicas, no están asociadas a cambios en la presión arterial sistémica, por lo menos, durante las dos primeras horas post inyección de Etox.Por otra parte,en el grupo I la administración previa de SOD revierte parcialmente la disminución de GSH y de MDA.

Estos resultados permiten postular la participación de los radicales libres derivados del oxígeno en las alteraciones hepáticas observadas en este modelo de shock y que dichas alteraciones aparecen antes de que se observen cambios de la presión arterial sistémica.

FONDECYT 92-0283 Y DIUC 91.3360-1

81

EFECTO DE CITRATO SOBRE LA ARGINASA DE HIGADO HUMANO (Effect of citrate on human liver arginase).
Claudio Torres y Nelson Carvajal. Depto. de Biologia Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Rec. Nat, Universidad de Concepción.

La arginasa cataliza la hidrólisis de la arginina en ornitina y urea y es activada por Mn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+} o Cd^{2+}. En estudios previos, hemos sugerido un rol fundamentalmente estructural para los iones metálicos en la enzima.
En el presente trabajo, hemos sometido a la arginasa de higado humano a una serie de condiciones que favorecerían la disociación de iones metálicos desde la enzima. Los resultados obtenidos demuestran que aún después de incubar 60 min. con citrato 0,1 M (pH 5) a 37°C y de dializar contra la misma solución, no se altera la actividad de la enzima. Sin embargo, mientras la enzima "nativa" no es retenida en una columna de DEAE-celulosa a pH 8,5, la especie tratada con citrato se une fuertemente a la resina. El cambio en la carga eléctrica de la proteina concuerda con el comportamiento electroforético de las especies nativa y tratada con citrato. Por otro lado, después del tratamiento con citrato, la enzima se convierte lentamente en especies que se caracterizan por su solubilidad en una solución de sulfato de amonio con una saturación de 70%. Estos cambios no se acompañan de alteraciones significativas en las propiedades cinéticas de la enzima.

Financiado por Proyecto FONDECYT 92-0294

82

CRISTALOGRAFIA DE PROTEINAS. ESTABILIZACION DE CRISTALES DE PROTEINAS. (Protein crystallography. Proteins crystal stabilization)
Riquelme I.,C.A. y Martínez O., J.A., Departamento de Biología Molecular, Fac. Cs. Biol. Rec. Nat. Universidad de Concepción.

La determinación de la estructura terciaria de proteínas, mediante difracción de rayos-X, tiene como uno de los pasos limitantes la calidad del cristal utilizado.

Los cristales de proteínas presentan una caracteristica singular: una alta proporción de solvente, aproximadamente 50 %. Esta caracteristica los hace muy sensibles a la deshidratación, al daño mecánico y a la exposición a la radiación, lo que se traduce en inestabilidad de los cristales. Dado que la calidad y estabilidad del cristal es uno de los "cuellos de botella" de la técnica, es fundamental poder disponer de una metodología para la estabilización de los cristales.

Se ha diseñado una técnica para monitorear la estabilidad del cristal frente a la temperatura. Se han "fundido" cristales de Lisozima, obtenidos variando la concentración salina, el tipo de sal, el pH de cristalización, y cristales de Ribonuclease T_1 obtenidos en presencia de diferentes aditivos y diferentes ligandos.

Se ha podido estabilizar los cristales hasta temperatura del orden de los 70 y 80°C para RNasa T_1 y Lisozima, respectivamente.

Estudios preliminares indican que la fusión de los cristales de proteínas sucede por perdida de la malla cristalina más que por denaturación de la proteína.

Proyectos de investigación DIUdeC 91.31.40-1 y 91.31.43

MICROBIOLOGIA

83

EXPRESION DE LA MICROCINA E492 PRODUCIDA POR **KLEBSIELLA PNEUMONIAE** CRECIDA BAJO DIFERENTES CONDICIONES. (Expression of microcin E492 from Klebsiella **pneumoniae** grown under different conditions). Orellana, C., Kuncar ,J.C. y Lagos, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La microcina E492 es un agente antimicrobiano de naturaleza peptídica que es producido y excretado al medio de cultivo por Klebsiella pneumoniae, y que tiene actividad bactericida sobre especies Gram negativas. Estudios bioquímicos y estructurales de este péptido se han visto limitados por la baja cantidad de microcina que es obtenida desde el medio de cultivo.

El objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones de crecimiento de K. pneumoniae en las cuales se produce una mayor cantidad de microcina. La actividad bactericida presente en sobrenadante de cultivos líquidos de la cepa productora se midió depositando una alicuota de éstos sobre un césped de una cepa de **E. coli** sensible a la microcina (cepa indicadora). La actividad se cuantificó midiendo el diámetro del halo de inhibición del crecimiento del césped.

Al utilizar glucosa, malato, succinato, fumarato o glicerol como fuentes de carbono de cultivos de la cepa productora se detectó menor actividad que al utilizar citrato. Sin embargo, al suplementar con sulfato ferroso el medio con glucosa se obtuvo una actividad comparable a la obtenida en sobrenadantes de cultivos con citrato. A su vez, la actividad de cultivos en medio tanto con citrato como con glucosa experimentó una notable disminución al agregar al medio DTPA, un agente quelante de hierro.

El sistema de transporte férrico-dicitrato que es inducido por citrato y hierro, podría tener un papel en la regulación de la expresión de la microcina E492.

Financiado por Proyecto Fondecyt 1203-90

84

CARACTERIZACION DE UNA NUEVA BENZALDEHIDO DESHIDROGENASA DE *Pseudomonas fluorescens* BIOVAR I EXPRESADA EN *E. coli*. (Characterization of a new benzaldehyde dehydrogenase from *Pseudomonas fluorescens* biovar I expressed in *E. coli*). Hinrichsen, P., Céspedes, R. y Vicuña, R. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Las vías degradativas de metilbencenos y de mandelato confluyen en la producción de benzaldehido, mientras que divergen en las etapas siguientes que llevan a la producción de intermediarios del ciclo del ácido cítrico. Estas vías están codificadas por diferentes operones regulados concertadamente. Ello permite, por ejemplo, evitar la acumulación de intermediarios tóxicos. Una etapa clave en estas vías es la oxidación del benzaldehido a ác. benzoico, catalizada por benzaldehido deshidrogenasas (BDH) propias de cada vía. En este trabajo se presentará la caracterización de una nueva BDH, la cual parece formar parte de un operón cromosomal de *P. fluorescens* biovar I involucrado en la degradación de benzoína, un compuesto modelo de lignina.

La enzima, contenida en un fragmento de DNA de 3,5 kb, se expresa en *E. coli*, lo que se aprovechó para purificarla y caracterizarla. Tiene un tamaño (por subunidad) de ≈45 kDa, es dependiente de NAD^+, y es activada por iones monovalentes como K^+. Tiene una T° óptima de 31°C, y su pH óptimo es de 8,5. Sus Km_{ap} son de 1,79 µM para benzaldehido, y 0,69 mM para NAD^+. Es capaz de oxidar benzaldehidos con diferentes sustituyentes en el anillo aromático, de preferencia en posición meta. Estas características la definen como una nueva BDH, inserta en lo que podría ser un nuevo integrante del grupo de operones relacionados con degradación de anillos aromáticos.

85

BIOSORCION DE IONES METALICOS POR PELICULAS BACTERIANAS. (Metal ions sorption by bacterial films). Rojas, O., Viedma, P., Alvarez, S., y Cotorás, D. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Se ha observado que los microorganismos poseen la capacidad natural de interactuar pasivamente con iones metálicos, los cuales se acumulan sobre su superficie, fenómeno conocido como biosorción. Esta capacidad se ha utilizado para remover iones metálicos desde soluciones diluídas. La biosorción de los iones no requiere que la biomasa esté activa, pues se debe a interacciones físico químicas entre éstos y la superficie celular, pudiendo, incluso, utilizarse biomasa muerta.

Para la biosorción de iones metálicos podrían utilizarse bacterias adheridas, lo que permitiría retención de la biomasa junto con el soporte, disminuyendo así la cantidad de biomasa requerida en el proceso.

En este estudio aplicamos el fenómeno de la biosorción para captar iones uranilo (UO_2^{2+}), utilizando **Bacillus sp.** adherido expontáneamente sobre una superficie inerte. Realizamos captaciones desde soluciones de uranilo (0,1 mM), lográndose una sorción de 0,5 mmoles/g de biomasa.

Se estudiaron los efectos de las velocidades de flujo de solución sobre la captación uranilo observándose un óptimo alrededor de 4,7 mL/min.

El uranilo captado por la biomasa se eluyó con HCl 1 N. Bajo estas condiciones se logró una liberación cuantitativa del uranilo, sin aparentes alteraciones de la película bacteriana. La elución cuantitativa se completó en un volumen muy inferior al volumen de la solución tratada.

Este tipo de tecnología podría emplearse para remover y concentrar iones metálicos provenientes de los efluentes de la actividad minera e industrial.

Financiado por IFS E1155-2 y DTI I-2749-9255.

86

PRODUCCION Y PURIFICACION PARCIAL DE ENZIMAS QUE MINERALIZAN EL ACIDO OXALICO SECRETADAS POR EL HONGO DE PUDRICION PARDA *Gloeophyllum trabeum* EN CULTIVOS SEMI-SOLIDOS. (Production and partial characterization of oxalic acid mineralizing enzymes secreted by the brown-rot fungus *G. trabeum* under semi-solid culture conditions). Espejo, E. Depto. de Ing. Química, Fac. de Ingeniería, Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: E. Agosin.)

El ácido oxálico ha sido propuesto como un componente esencial del sistema que depolimeriza la celulosa en hongos de pudrición parda, sistema que se asemeja a la reacción de Fenton.

La mayoría de los hongos de pudrición parda estudiados producen ácido oxálico en medio líquido y en medio semisólido. *G. trabeum* presenta una gran capacidad de depolimerizar la celulosa y por otra parte acumula una baja cantidad de ácido oxálico, durante la degradación de holocelulosa de pino. Este hongo crecido en cultivos semi-sólidos degrada rapidamente el ^{14}C-oxálico a $^{14}CO_2$.

Un extracto crudo obtenido de estos cultivos, posee la capacidad de mineralizar el ácido oxálico. Como producto de la reacción se ha identificado por HPLC ácido fórmico. Estudios preliminares, han determinado un pH óptimo de 3.0 y una inhibición por deferrioxamina de un 80% a concentraciones superiores a 20mM. Esta enzima tendría un peso molecular aparente de 70kDa, determinado por filtración en gel. La producción de esta actividad enzimática fue optimizada y escalada a nivel de fermentador de 1 L. (Proyecto FONDECYT 91-0794)

87

UNION DE ESTERES DEL COENZIMO A CON XENOBIOTICOS A PROTEINAS INTRACELULARES TRANSPORTADORAS DE ACIL-COENZIMOS A NATURALES (Binding of Coenzyme A esters of xenobiotics to intracellular acyl-coenzyme A transporting proteins). Morgan, C., Pizarro, E., y Vargas, L. Fac. Cien. Biol., P. Universidad Católica de Chile

Los acil-CoA naturales son especies intermediarias del metabolismo lípidico, mientras que el coenzimo A es un importante regulador tanto del metabolismo de lípidos como de azúcares. Recientemente se han descrito proteínas solubles que unen acil-CoAs naturales y que parecen tener un papel fisiológico en el transporte, actividad y distribución intracelular de los acil-CoAs. En los últimos años ha aparecido evidencia creciente que sugiere que los acil-CoA naturales regulan una serie de funciones celulares consistentes con la respuesta pleiotrópica evocada por ciertos xenobióticos caracterizados por ser ácidos carboxílicos no beta-oxidables, en su mayoría ácidos o ésteres de ácidos aril-carboxílicos. Sus efectos en varias especies de roedores y primates incluyen inducción de enzimas peroxisomales, mitocondriales y microsomales, hepatomegalia e hipertrofia de hepatocitos, proliferación peroxisomal y promoción de tumores. Previamente, hemos demostrado la rápida formación *in vivo* de los derivados CoA de varios de estos xenobióticos y propuesto que ellos son los metabolitos activos de tales drogas.

Usando técnicas de filtración en gel mostramos que los tioésteres del coenzimo A de varios de estos xenobióticos-CoA son capaces de competir con acil-CoAs naturales por ACBP parcialmente purificada. Estos resultados apoyan nuestra hipótesis de que el mecanismo de acción de tales xenobióticos, entre los que se incluyen agroquímicos, plastificantes y drogas hipolipidemiantes, es mediado por la formación de sus tioésteres del coenzimo A. (financiamiento: Fondecyt 800-92)

88

ENZIMAS SECRETADAS POR EL HONGO DE PUDRICION PARDA *Gloeophyllum trabeum* IMPLICADAS EN LA DEGRADACION DE LA MADERA. (Enzymes secreted by the brown-rot fungus *G. trabeum* involved in the degradation of wood). Cotoras, M., Mihovilovic, D., Eyzaguirre J. y Agosin E. Depto. de Ing. Química, Fac. de Ingeniería y Depto. de Biología Celular y Molecular, Fac. de Cs. Biológicas, Universidad Católica de Chile.

La madera degradada por los hongos de pudrición parda, se caracteriza por una extensiva metabolización de celulosa y hemicelulosas. Entre las hemicelulasas que producen estos hongos, las mananasas han sido muy poco estudiadas. Con respecto al sistema celulolítico, éste estaría formado solamente por endoglucanasas y β-glucosidasas y la expresión de estas enzimas sería constitutiva. En este trabajo se estudió las mananasas producidas por el hongo de pudrición parda *G. trabeum* y se analizaron algunos aspectos regulatorios de la expresión de las endoglucanasas.

La producción de mananasas en diferentes medios de cultivo fue analizada. La mayor expresión de éstas se obtuvo utilizándo hemicelulosas como fuente de carbono. Las mananasas fueron purificadas parcialmente, siendo independientes de las endoglucanasas.

Por otra parte, *G. trabeum* produjo endoglucanasas en medios de cultivo que contenían monosacáridos, disacáridos o celulosa. Aunque el nivel de expresión fue diferente. En un medio que contiene lactosa o glucosa la expresión fue inducida por celobiosa. Glucosa no reprime la producción de endoglucanasas.

(Proyectos FONDECYT 91-0794 y 92-0045)

89

LA POBLACION BACTERIANA DE LA PLANICIE MAREAL DE YALDAD Y SU SIGNIFICADO PARA LA ALMEJA *Venus antiqua* (The bacterial population of the tidal mud flat of Yaldad and its significance for the clam *Venus antiqua*) Herrera, C., Zimmermann, R., Clasing, E., Ascencio, G., Navarro, J., Stead, R. Instituto de Biología Marina, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio : E. Clasing)

La presencia de dos comunidades de almejas *(Venus antiqua y Mulinia sp)* en dos sectores adyacentes de la planicie mareal de Yaldad, podría reflejar diferencias entre las poblaciones bacterianas presentes en la interfase agua-sedimento de cada sector. Por otra parte, la presencia de bacterias podría traducirse en una importante oferta alimentaria complementaria durante el período de menor concentración fitoplanctónica para *Venus antiqua*.

Para responder estas interrogantes se realizaron muestreos con periodicidad estacional en los dos sectores referidos de la planicie mareal. Por otra parte se mantuvieron almejas en acuarios con sus respectivos controles, para constatar de esta manera la ingestión de bacterias marinas. El recuento y biomasa bacteriana se estimó según Zimmermann, (1974, 1977) y Bratbak, (1985).

Las concentraciones bacterianas fueron altas durante todo el período investigado. Se encontró en ambos sectores una fluctuación estacional del número y la biomasa muy similar. Si se compara el promedio de la biomasa bacteriana adherida a MOP obtenida de la columna de agua (1,5 X 10-5 mg C ml-1) la almeja *Venus antiqua* presenta una alta tasa de ingestión de bacterias adheridas a MOP (15,6 X 10-5 mg C ml-1 X hora) .La flora bacteriana del tracto digestivo de *Venus antiqua* parece ser propia de ella.

BIOFISICA I

90

Un modelo de energía mínima para la ß-lactamasa I de *Bacillus cereus*. (A minimum energy model for *Bacillus cereus* ß-lactamase I)

Marta Bunster, Lab. Biofísica Molecular, Depto. Biología Molecular, Universidad de Concepción. Casilla 4077, Correo 3, Concepción, Chile.

Las ß-lactamasas resultan importantes en la resistencia bacteriana a los antibióticos ß-lactámicos. Se conoce la secuencia amino acídica para una gran grupo de ß-lactamasas clase A. La estructura terciaria se ha determinado con precisión sólo para dos de estas enzimas. Ha sido postulado por nuestro laboratorio que la existencia de familias de enzimas que realizan una misma función, y que presentan una baja homología de secuencia pero una alta homología en estructura secundaria, debieran presentar una estructura tridimensional semejante. En este trabajo se construyó la secuencia de la ß-lactamasa de *Bacillus cereus* sobre la estructura a 2.5 A de resolución, de la ß-lactamasa de *Staphylococcus aureus*. Se construyó *ab initio* los segmentos muy diferentes y se realizó varios ciclos de minimización de energía dejando libre toda la molécula.

Se discute la validez del modelo resultante, utilizando información sobre superficies accesibles, datos de dicroísmo circular para esta proteína y la estructura cristalina a baja resolución.

Proyecto 20.31.32 DI.U.de Concepción.
Convenio DAAD-CONICYT.

91

LA ESTRUCTURA HELICOIDAL ANFIPATICA EN PROTEINAS. POSIBILIDADES DE PREDICCION. (The amphipathic Helical Structure in Proteins. Prediction Accuracy). Gazitúa, F. y Cid, H.

Depto. de Biología Molecular, Fac. Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Se define una estructura helicoidal anfipática como aquella que presenta dos regiones claramente definidas, una polar y la otra apolar, orientadas paralelamente al eje longitudinal de la hélice.

Se analiza una muestra de 12 proteínas globulares, que incluye las clases estructurales αα,αβ y α+β en la que el porcentaje de hélices anfipáticas varía entre 50 y 75%. Se propone un método para definir las hélices anfipáticas utilizando 3 escalas de hidrofobicidad y se analiza los resultados de 3 métodos de predicción (Chou y Fasman, Cid et al, Parker y Soon Song) para este tipo de hélices, cuando se introduce como dato anexo la clase estructural de la proteína.
Los resultados muestran que, de los 3 métodos usados, en 2 métodos la predicción por clase estructural mejora en un 12% la calidad de la predicción.

Se discute la influencia de factores ajenos a la secuencia de aminoácidos (Coenzimas Y Iones metálicos) en los resultados negativos de los distintos métodos de predicción de estructura helicoidal.

PROYECTO DE INVESTIGACION 20.31.34 y 91.31.43-1 D.I.C. Universidad de Concepción.

92

ESTUDIOS SOBRE LA ACTIVIDAD DE ANEXINA I EN MEMBRANAS. (Studies on the activity of annexin I on membranes). De la Fuente,M., Lee, G., Pollard, H.B., Depto de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, y LCBG, NIDDK, NIH. (Patrocinio: G. Riquelme).

Durante la exocitosis, los gránulos de secreción cercanos a la membrana se anclan y luego se funden con ella, vaciando su contenido al medio extracelular. Los mecanismos involucrados en estos procesos no se conocen. Se ha postulado que algunas anexinas, que son proteínas que se unen a membranas en presencia de Ca^{2+}, podrían jugar un rol en estas etapas. Buscando una proteína capaz de mediar contactos intermembranas y su posterior fusión en la exocitosis dependiente de Ba^{2+} (en células cromafines), recientemente purificamos a homogeneidad una proteína que agrega gránulos cromafines en presencia de Ba^{2+}. Posteriormente identificamos esta proteína como la anexina I. Con el fin de caracterizar más detalladamente los efectos de esta proteína en membranas, estudiamos sus efectos en liposomas unilamelares hechos con fosfolípidos ácidos. Encontramos que la anexina I promueve agregación y fusión de los liposomas en presencia de Ca^{2+} o Ba^{2+}, y que estas actividades son aparentemente controladas por el dominio N-terminal, que es muy susceptible a degradación proteolítica. En efecto, mientras la lipocortina intacta agrega y funde liposomas bajo condiciones de pH y fuerza iónica similares a las fisiológicas, [des 1-12] lipocortina sólo agrega a fuerza iónica baja y pH ácido, y carece completamente de actividad fusogénica. La actividad es restituída cuando la [des 1-12] lipocortina I se convierte en [des 1-24] lipocortina I por tripsinolisis controlada. Estos datos son consistentes con un rol de esta proteína en la exocitosis, y sugieren que su actividad podría ser controlada por proteasas de la membrana.

93

EFECTO DEL CALCIO INTRACELULAR SOBRE EL INTERCAMBIO Na/Ca EN MUSCULO ESQUELETICO DE ANFIBIO. (Intracellular calcium dependence of Na/Ca exchange in amphibian skeletal muscle). Cifuentes,F. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago. (Patrocinio: C. Hidalgo).

Dada la importancia fisiológica del Ca^{2+} en músculo esquelético nos pareció importante estudiar uno de los mecanismos que participan en la homeostasis del calcio en este tejido, el intercambiador Na/Ca. En los estudios realizados *in vitro*, en una preparación de vesículas de túbulos transversales (T-T) de músculo esquelético de rana (que se encuentran selladas con el lado citoplasmático hacia fuera), demostramos que el intercambiador puede actuar en el modo reverso liberando calcio desde el interior de las vesículas, lo que equivale a entrar calcio al interior de la célula. La salida de ^{45}Ca desde estas vesículas se caracteriza porque: -se libera sólo alrededor del 40% de la carga máxima; -la velocidad de salida es significativamente mayor en un medio con bajo Ca^{2+} (pCa > 9).
Considerando estos antecedentes, quisimos estudiar con mas detalle el efecto del calcio externo sobre la velocidad de salida de ^{45}Ca. Para ello se cargaron pasivamente las vesículas de T-T con 2 mM $^{45}CaCl_2$ y se procedió a inducir la liberación en medios con distintos pCa en 140 Na, pH=7,4 a 5°C. Encontramos que la velocidad de salida de ^{45}Ca disminuye a medida que aumenta el calcio extravesicular, observandose una relación sigmoidal entre las constantes de velocidad y el pCa del medio extravesicular. El rango de las constantes de velocidad fue de: k=5.34 min^{-1} a pCa>9 y k=1.74 min^{-1} a pCa=5; el pK obtenido del ajuste sigmoidal es de 7.04. Por otra parte, el hecho que se libere sólo un porcentaje del ^{45}Ca acumulado sugiere que existe una población heterogenea de vesículas y que sólo algunas contienen el intercambiador, descartando por consideraciones termodinámicas que este efecto se deba a una inhibición de la salida de ^{45}Ca por Ca^{2+} externo o Na interno. Estos resultados sugieren que la entrada de calcio por el intercambiador en la célula se inhibe al aumentar el calcio interno.

Financiado por proyectos FONDECYT 0060-92 y 1108 91.

94

EFECTO DEL pH EN LA MODIFICACION QUIMICA DEL TRANSPORTADOR DE Fe(II). (Effect of pH on the chemical modification of the iron transporter). González-Sepulveda, M.A. y Nuñez, M-T. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

El transporte celular de hierro consta de varias etapas entre las cuales el paso del metal a través de la membrana plasmática de los reticulocitos puede ser estudiada con independencia de los elementos celulares usando fantasmas sellados (FS) obtenidos de reticulocitos de conejo. Estudios de velocidad de incorporación y acumulación de Fe^{2+} en FS demuestran que tal modelo presenta ventajas sobre otros para estudiar el efecto de reactivos modificadores de aminoacidos sobre el transportador de hierro de tal membrana.

Se realizó un estudio sistemático de modificación de resíduos aminoacídicos y su incidencia en el transporte de hierro. Se observó inhibición del transporte de Fe(II) al modificar las membranas con ninhidrina (0.1 mM, pH 9.0), inhibición que fué prevenida al modificar en presencia de Fe^{2+}. Esta observación sugiere la participación de un resíduo arginil en la vía de transporte de hierro, lo que fué reafirmado en estudios de efecto de pH sobre tal modificación la cual alcanza valores máximos a pHs sobre 9.0. Sumando a esto el alto pKa del grupo guanidino ($pKa \geq 12$) de la arginina, las pruebas de su participación en el proceso de transporte son claras.

Experimentos de efecto de la concentración de cloruro en el transporte de Fe(II) indican que este anión podría ser cotransportado con el metal bivalente.

Los resultados se pueden explicar si al especie transportada es $FeCl_n$, y un resíduo arginil esta en la vía de paso del catión.

Financiado por Proyecto Fondecyt 1080-91.

95

CARACTERIZACION DE CORRIENTES DE MEMBRANA EN CELULAS ENDOTELIALES DE RATA (Outward currents in endothelial cells of rat brain capillaries). Delpiano, M.A. (Patrocinio: J. Bacigalupo). Max-Planck-Institut für Systemphysiologie, Dortmund, Alemania.

Células especializadas en detectar cambios de presion parcial de oxígeno (PO_2) tisular estan presentes en diversos tejidos del organismo. Las células de tipo-I del glomo carotídeo, un quimioreceptor arterial, responden a la hipoxia disminuyendo la conductancia de sus corrientes de potasio. Ese efecto parece ser responsable para la secreción hormonal que acompañan a ese estímulo. Células endoteliales son igualmente O_2-dependientes y liberan hormonas ante bajas del PO_2 arterial. Por ese motivo, buscando el mecanismo de respuesta, células endoteliales de cerebro de rata fueron investigadas usando la técnica electrofisiológica del patch-clamp. Dos tipos de protocolos demuestran diferentes corrientes de membrana. 1) Cambios de voltages desde -140 mV a 100 mV desde un potencial mantenido (holding potential) de -50 mV crea corrientes de salida y entrada que activan a -30 y -65 mV respectivamente y poseen clara rectificación. Esas corrientes son sensibles a TEA, Cs^+ y Co^{2+}. Ellas son tambien reducidas en su amplitud por Tolbutamida (1 mM) y Glibenclamida (0.2 mM) en 20 y 50 % respectivamente. Las corrientes de entrada son sensibles a TEA y Cs^+ pero no Co^{2+}. 2) Pulsos depolarizantes a -80 mV desde un potential mantenido de -80 mV revela corrientes de entrada sensibles a TTX . Las corrientes de salida son moderadamenta afectadas por hypoxia (20 Torr) y NaCN (1 mM) que incrementa su amplitud. De esos resultados se concluye que esas células endoteliales poseen corrientes de K^+, Na^+ y probablemte de Ca^{2+}, según lo indica el efecto del Co^{2+}. Las corrientes de K^+ parecen ser metabolismo dependiente ya que su conductancia es afectada por hipoxia y el bloquedor de la respiración mitocondrial (NaCN), aunque en forma contraria a las células tipo-I del glomo carotídeo.

96

IMAGENES DE CALCIO INTRACELULAR EN CELULAS MUSCULARES EN CULTIVO (Intracellular calcium imaging in cultured muscle cells). Hidalgo, J. y Jaimovich, E. Dpto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, U. de Chile y C.E.C.S.

Hemos usado células musculares esqueléticas de ratas perinatales mantenidas en cultivo primario para hacer registros simultáneos de imágenes de video y electrofisiológicos. Las células se incuban 20 minutos con el colorante Fluo-3 AM (forma esterificada y por lo tanto permeable). Una vez desesterificado al interior de la célula, la fluorescencia del colorante es proporcional al Ca^{+2} libre. La iluminación es por epifluorescencia y la imagen se detecta con una cámara de televisión tipo CCD adosada al microscopio. Esta imagen se graba en cinta de video y se visualiza en tiempo real en un monitor. Posteriormente, las imágenes se recuperan una a una y se graban en el disco duro de un computador desde donde son analizadas por un programa de tratamiento de imágenes. Las células se sellan con electrodos para registro con patch-clamp en su modalidad de célula entera. Usamos nistatina al interior de la pipeta lo que permite sólo el paso de iones monovalentes a traves del sello con la membrana, manteniendo así al mínimo la alteración de componentes dializables.
Con pulsos despolarizantes en condiciones de potencial controlado, el aumento de la señal transitoria de fluorescencia tiene un potencial umbral (Vm aprox. -40 mV) y un curso temporal que es posible de seguir en las imágenes capturadas (aprox. 1.5 seg de duración total).
Mediante un sistema de perfusión contínua hemos podido seguir el curso temporal de la acción de diversos agentes modificadores de la liberación de calcio manteniendo el potencial de membrana controlado.
La disponibilidad de información eléctrica tanto como del nivel de calcio intracelular con una buena resolución temporal y espacial nos permite poner a prueba variados aspectos del acoplamiento excitación contracción en músculo esquelético en cultivo.
Financiado por MDA, FONDECYT 896, DTI 9213.

97

FUENTES DE CALCIO IONICO INTRACELULAR EN CELULAS EXCITABLES. (Sources of ionic intracellular calcium in excitable cells). Rojas, E., M. Luxoro, y M.E. Pollard. Lab. Fisiología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Lab. of Cell Biology and Genetics, NIDDK, NIH, Bethesda, USA.

No hay claridad respecto al mecanismo de transducción entre la despolarización del plasmalema y la liberación de Ca^{2+} intracelular. En músculo esquelético hay evidencias que a raiz de cambios eléctricos en la membrana, se forma inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), el cual ocasiona liberación de Ca^{2+} y contractura. Por otro lado, aplicaciones de cafeína o ryanodina producen un efecto similar. En fibra muscular aislada de crustáceo hemos encontrado que tetracaína, droga que bloquea el acoplamiento excitación-contracción, también inhibe la activación mecánica inducida por cafeína pero no tiene efecto en el desarrollo de tensión inducido por IP_3 exógeno. Lo anterior, podría ser explicado si se postula que cafeína e IP_3 acceden a diferentes compartimientos intracelulares. El objetivo del presente trabajo es tratar de confirmar esta hipótesis.

Se utilizaron fibras musculares aisladas de los crustáceos Megabalanus psittacus y Homarus americanus. Para medir liberación de Ca^{2+}, las fibras fueron cortadas longitudinalmente (flecadas) con el fin de tener acceso al medio intracelular e incubadas con acuerina. La luz resultante de la reacción entre acuerina y Ca^{2+} fué detectada mediante dos fotomultiplicadores.

La liberación de Ca^{2+} producida por exposiciones consecutivas a cafeína y ryanodina, aún en dosis máximas, son siempre aditivas y semejantes. Esto sugiere que las dos drogas tienen acceso a diferentes compartimientos de Ca^{2+}, los cuales tienen una capacidad relativamente similar. Por otro lado, aplicación de cafeína (9 mM) a fibras flecadas expuestas previamente a altas dosis de IP_3 (+ 130 uM) no se vé afectada, mientras que el tratamiento previo con IP_3 puede agotar el compartimiento sensible a ryanodina y viceversa.

Nuestros resultados demuestran que en las fibras musculares de crustáceo hay por lo menos dos compartimientos intracelulares de Ca^{2+}, ambos con posibilidad de liberar Ca^{2+}, aunque por mecanismos diferentes.
Proyecto DTI 2810/9234 y Fondecyt 1055/92.

98

COMPONENTES IONICOS DEL POTENCIAL DE ACCION DE CELULAS CROMAFINES DE GLANDULA ADRENAL DE ANFIBIO (Ionic components of action potential in adrenal chromaffin cells of amphibians). Bonansco, C., Nassar, V. y . Fac. Cs. Universidad de Playa Ancha y Lab. Fisiol. Cel., Fac. de Ciencias, Universidad de Chile.

La generación de actividad eléctrica en células cromafines de la glándula adrenal forma parte de la primera etapa del proceso de acoplamiento estímulo-secreción. Previamente presentamos algunas características electrofisiológicas de las células cromafines del sapo Caudiverbera caudiverbera, como parte de un estudio integrativo del proceso secretor y de la actividad eléctrica, en una misma especie. En este trabajo se presentan las componentes iónicas que participan en la génesis del potencial de acción.

Se usó la porción cefálica de la glándula, en la cual existe una mayor densidad de células cromafines. Se perifundió continuamente a T° ambiente con una solución Ringer (en mM: NaCl 95, $NaHCO_3$ 25, KCl 2, $MgCl_2$ 1, $CaCl_2$ 2.5 y glucosa 5), la cual fué constantemente equilibrada con una mezcla de 95%O_2-5% CO_2 para obtener un pH de 7.2. El registro intracelular de potencial de membrana (V_m) y la inyección de pulsos de corriente se realizó con electrodos ultrafinos (R=200 a 300 MOhm). El V_m en reposo de estas células es de -53 ± 3.2 mV (n=28).

Aproximadamente el 20% de las células presentan actividad eléctrica espontánea. La amplitud del potencial de acción es ~30 mV, por lo que no se alcanzan valores positivos de V_m. Es frecuente observar espigas más pequeñas, las cuales probablemente se generen en células vecinas eléctricamente acopladas. Todas las células presentan actividad eléctrica repetitiva en respuesta a la inyección de un pulso rectangular de corriente despolarizante (hasta +200 pA, 1 seg). En presencia de TTX las espigas desaparecen, lo que indica la participación de canales de Na^+ sensibles al voltaje en la generación del potencial de acción. Sin embargo, en presencia de TTX y TEA reaparece una espiga de amplitud ~79 mV y de larga duración (> 1 seg). Bajo estas mismas condiciones al aumentar la $[Ca^{2+}]_o$ de 2.5 mM (fisiológica) a 12.5 mM, la amplitud de los potenciales de acción aumenta a ~95 mV, lo que indica que esta espiga se produciría por corriente de entrada de Ca^{2+}. Los resultados también sugieren que la cinética de la corriente de entrada de Ca^{2+} y de salida de K^+ serían similares.

Proyectos DTI, Fondecyt 1055/92 y CNEI 239192 UPLADED.

99

ACTIVACION DEL CANAL DE Ca^{2+} DE RETICULO SARCOPLASMATICO (RS) POR LIBERACION FOTOLITICA DE Ca^{2+} DESDE COMPUESTOS ENJAULADOS (Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} channel activation by photolytic release of Ca^{2+} from caged compounds). Fill, M., Vélez, P. y Gyorke, S. Depto de Fisiología y Biofísica. Fac. de Medicina. U. de Chile y Dept. of Physiology and Biophysics. U. of Texas Medical Branch. (Patrocinador: B. Suárez)

Los canales de Ca^{2+} del RS de músculo permiten la salida de Ca^{2+} hacia el citoplasma y la activación de la maquinaria contráctil. En el músculo cardíaco, el principal agonista fisiológico de la liberación de Ca^{2+} es el mismo catión. Los canales de RS cardíaco son activados por Ca^{2+} por la cara citosólica. Esta activación ha sido estudiada en condiciones de régimen estacionario frente a concentraciones constantes de agonistas. Sin embargo, en condiciones fisiológicas, el canal de Ca^{2+} del RS cardíaco está sometido a un régimen de cambios abruptos y transitorios de $[Ca^{2+}]$ citosólico y es posible que el mecanismo de activación de estos canales dependa no sólo de la magnitud del cambio de $[Ca^{2+}]$ citosólico sino también de la velocidad de este cambio. Se estudió la sensibilidad de los canales de calcio de RS cardíaco de perro en condiciones de liberación ultrarrápida de Ca^{2+} limitada en las cercanías inmediatas (< 100 μm) del canal, mediante fotólisis (UV, láser Nd:YAG pulsado) de DM-Nitrophen, después de incorporación a bicapas planas artificiales (metanosulfonato de cesio, 400 mM simétrico, pH 7.4). Se encontró que los aumentos ultrarrápidos de Ca^{2+} (de pCa 7 a pCa 6; 100 ns) por el lado citosólico, activan el canal de manera transitoria después de un retardo de alrededor de 1.0 ms. La activación decae con una constante de tiempo del orden de 700 ms (≈ 10 veces mayor que el tiempo de difusión calculado). Estas observaciones documentan por primera vez la factibilidad de activar de manera reproducible canales iónicos incorporados en bicapas mediante la liberación de agonistas (Ca^{2+}) desde compuestos fotosensibles activada por flashes fotolíticos.

Financiado por Proyectos FONDECYT 1294-91 y DTI B-3199.

100

CANALES DE LIBERACION DE Ca^{+2} EN RETICULO ENDOPLASMICO DE HIPOCAMPO DE RATA. (Ca^{+2}release channels in endoplasmic reticulum from rat hippocampus) Sierralta, J. y Suárez, B. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El estudio de la regulación del calcio por compartimentos intracelulares en neuronas es un tema sólo recientemente abordado en neurobiología. Estudios autorradiográficos demuestran la presencia de receptores a rianodina (RyR) e inositol (1,4,5) trisfosfato (IP_3R) en áreas discretas del cerebro. En el hipocampo ambos receptores se encuentran presentes en áreas específicas: RyR en el área CA3-Giro dentado (GD) y e IP_3R en el área CA1. En este trabajo se obtuvieron preparaciones microsomales nativas de ambas regiones, se cuantificó la unión de Ry e IP_3 y se caracterizaron los canales en bicapas planas.

La preparación microsomal de hipocampo total tiene una unión a IP_3 de 2.4 pmol/mg de proteína y una unión a Ry de 210 fmol/mg de proteína. Esta preparación incorporada en bicapas planas (CsCl 250 mM cis / 0 mM trans, pH 7.4 y 5 mM Ca^{+2} cis), presentó un canal catiónico de 88 pS bloqueable parcialmente por heparina (10 μg/ml) y otro de 188 pS con sensibilidad a Ry (200 nM). Preparaciones de ambas áreas por separado del área CA3-GD mostraron enriquecimiento de la unión de Ry de dos veces, respecto del área CA1. En soluciones simétricas de metanosulfonato de cesio ($CsCH_3SO_3$, 400 mM, pH 7.4), los microsomas del área CA3 contienen al menos dos tipos de canales catiónicos. Uno de ellos (335 pS) es muy poco activo (P_o < 0,1) a bajas concentraciones de calcio en cis (pCa 6 a 5). Un segundo tipo de canal de 11 pS, se mostró activo en este mismo rango de concentraciones de calcio. Estos canales pueden estar asociados a los receptores de IP_3 y Ry presentes en estas preparaciones microsomales.

Financiado por proyectos Fondecyt 1294-91 y DTI B-3199

101

LA FOSFORILACION AUMENTA LA SENSIBILIDAD A CALCIO DE CANALES DE CALCIO DE RETICULO SARCOPLASMATICO. (Phosphorylation increases calcium sensitivity of calcium channels from sarcoplasmic reticulum). Marengo, J.J.*, Jorquera, J.*. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y *Centro de Estudios Cientfficos de Santiago. *Becario Fundación Andes (Patrocinio: R. Bull).

En el anfibio *Caudiverbera caudiverbera* el receptor de ryanodina, putativo canal de liberación de calcio del retículo sarcoplasmático (RS) de músculo esquelético, es el principal sustrato de proteína quinasa endógena dependiente de calcio-calmodulina presente en preparaciones de vesículas de RS unido a túbulo transversal (tríadas).

Los canales provenientes de vesículas fosforiladas *in vitro* mostraron un aumento de la sensibilidad al calcio en la cara citoplasmática del canal con una $K_{0.5}$ para la activación por calcio de 0.95 μM; sin inhibición por calcio citoplasmático en concentraciones altas (0.5 mM). En contraste, canales provenientes de vesículas no tratadas manifiestan activación por calcio a concentraciones mayores ($K_{0.5\text{-act.}}$ = 16 μM) e inhibición en presencia de calcio alto en la cara citoplasmática del canal ($K_{0.5\text{-in.}}$ = 68 μM). En condiciones de reposo (pCa = 7), la fosforilación no modificó la fracción de tiempo que el canal permanece en el estado abierto (Po) (0.03 ± 0.01 y 0.02 ± 0.01 para fosforilado y control, respectivamente). De un total de 35 experimentos con canales no tratados, el 20% presentó una relación entre Po y calcio citosólico libre similar a la de los canales fosforilados, sugiriendo que algunas preparaciones contienen canales fosforilados. Más aun, tríadas preparadas en presencia de NaF (un inhibidor de fosfatasas), presentan canales con similar sensibilidad al calcio que las fosforiladas *in vitro*.

Nuestros resultados muestran que la dependencia de calcio de los canales de calcio del RS se modifica por fosforilación, y sugieren que en condiciones fisiológicas éste podría ser un mecanismo de regulación de la actividad del canal.

Financiado por proyectos FONDECYT 1298-90 y 1108-91.

102

HALOTANO INDUCE LIBERACION DE CALCIO DESDE EL RETICULO SARCOPLASMATICO. ESTUDIOS EN VESICULAS Y CANALES UNICOS. (Halothane induces calcium release from sarcoplasmic reticulum. Studies with vesicles and single channels). Beltrán, M. y Bull, R. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha involucrado a los canales de calcio del retículo sarcoplasmático (RS) en los episodios de hipertermia maligna (HM) que presentan individuos susceptibles frente a agentes farmacológicos utilizados en anestesia, como halotano. Anteriormente comunicamos que halotano activa los canales de calcio de RS del músculo esquelético de *Caudiverbera caudiverbera*, en condiciones de pH 7.4.

En este trabajo hemos caracterizado el efecto de halotano a pH 7.1 (cercano al pH fisiológico intracelular) en la liberación de calcio, medida con la técnica de filtración rápida desde vesículas purificadas de RS, y sobre la actividad de canales de calcio del RS fusionados con bicapas planas. Halotano 200 a 500 μM potencia la liberación de calcio inducida por 1 μM de calcio mioplasmático, mientras que no lo hace en presencia de calcio 10 μM. No observamos liberación de calcio inducida por halotano con concentración de calcio de reposo (0.1 μM). En canales fusionados con bicapas, halotano 17 a 136 μM produce activación caracterizada por un aumento en la fracción de tiempo abierto (Po), sin cambio de la conductancia. Este aumento de Po es dependiente de la concentración de calcio libre en el compartimiento mioplasmático. Así, la mayor activación se produce con 1 μM calcio, siendo menor, tanto para niveles de calcio mayores como menores. Para 0.1 μM calcio el efecto es mínimo. En condiciones de pH 7.1 los canales muestran mayor sensibilidad a halotano que a pH 7.4, dentro del rango de pCa estudiado.

Nuestros resultados muestran que halotano es capaz de abrir los canales de calcio, con mayor facilidad, con niveles de calcio mayores que los de reposo, provocando liberación de calcio. Ello puede contribuir a explicar el desencadenamiento de la crisis de HM, ya que en individuos susceptibles se han medido niveles de calcio en reposo de 0.4 μM.

Proyectos FONDECYT 1298-90 y 1108-91 y DTI B-3199-9223.

FARMACOLOGIA – FISIOLOGIA I

103

HIPOTENSORES DE LAURELIA SEMPERVIRENS (MONIMIACEAE). (Hypotensors from LAURELIA SEMPERVIRENS). J. A. Rodríguez, J. I. Loyola y A. Urzúa*.Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca (Chile). *Departamento de Química, USACH, Santiago (Chile). (Patrocinio: R. Bustamante).

Laurelia sempervirens (Monimiaceae) es un árbol endémico de Chile que crece en las cordilleras de los Andes y de la Costa, desde la VI a la X Región. Se lo conoce con el nombre vulgar de "Laurel". La infusión de hojas de L. sempervirens fué empleada por la etnia Mapuche para tratar dolores de cabeza y curar la migraña. El extracto EtOH:H2O 7:3 de Laurel produce un efecto hipotensor marcado en ratas normotensas e inhibe la actividad de la enzima B-glucuronidasa "in vitro".

El objetivo de este trabajo fué aislar y caracterizar los principios hipotensores de las hojas de Laurel. A la dosis de 5 mg crudo/Kg (intravenosa), el extracto produjo una caida significativa (-27%) de la presión arterial media. Al particionarse el crudo con solventes de polaridad creciente (CH_2Cl_2, n-BuOH, acuoso) y extraerse selectivamente los alcaloides, se verificó un efecto máximo en las fracciones alcaloídicas. Al evaluarse los crudos de alcaloides a 1 mg/Kg i.v., la fracción extraida a pH básico produjo un efecto hipotensor de 23%, mientras la obtenida a pH ácido causó un 13% de hipotensión. El efecto hipotensor fué dependiente de la dosis. Al cromatografiarse la fracción básica del extracto alcaloídico total en sílica o alúmina, se observó descomposición de los productos, por lo que las fracciones de columna se derivatizaron a clorhidratos para su ensayo.

Los alcaloides Liriodendrina, Michelalbina, Normantenina y Laurelina, aislados de hojas de L. sempervirens, se evaluaron en idénticas condiciones, a la dosis de 2.5 mg/Kg. Liriodendrina y Michelalbina fueron inactivos a esta concentración, mientras que Normantenina causó una hipotensión débil, y Laurelina un efecto moderado (-16%).

El aislamiento y caracterización de los hipotensores del Laurel está en progreso.

(Financiado por FONDECYT 039/90 e IFS 1720-1)

104

CO-LIBERACION DE NPY Y NA DE LOS TERMINALES SIMPATICOS DEL CONDUCTO DEFERENTE DE LA RATA. (Co-release of NPY and NA from the sympathetic nerve terminals of the rat vas derferens). Torres, G. Laboratorio de Farmacología, Fac. Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: J.Pablo G.Huidobro T.).

El neuropeptido Y (NPY) se encuentra ampliamente distribuído tanto en neuronas centrales como periféricas. En estas últimas se co-almacena frecuentemente con noradrenalina (NA). El conducto deferente (CD) recibe una inervación simpática particularmente rica en NPY y NA. Nuestra hipótesis plantea que NPY actuaría como co-transmisor en esta unión neuroefectora, liberándose junto con NA desde las terminales nerviosas, donde ejercería una acción modulatoria de la liberación de NA. El objetivo de este estudio fue caracterizar la co-liberación de NPY y NA del CD de la rata. Segmentos epididimarios (E) y prostáticos (P) del CD fueron incubados con 3H-NA, montados en cámaras de superfusión y estimulados eléctricamente (1ms, 70V, 1-70Hz). Se registró contracción muscular y se determinó ir-NPY y tritio en el medio de superfusión. Estímulos de 30 a 70 Hz provocan una liberación gradual de NPY en E y P. En contraste, la 3H-NA se liberó con estímulos de frecuencias > 1Hz, alcanzando un máximo a los 15 Hz en ambas regiones del CD. La liberación tanto de NPY como NA depende de la presencia de calcio extracelular. La administración de 6-OHdopamina (200 mg/kg iv 48 h.) oblitera la respuesta contráctil del CD y previene la liberación de NPY y 3H-NA. En resumen, NPY y NA se co-liberan desde las varicosidades simpáticas del CD, presentando una dependencia diferencial de la frecuencia de estimulación eléctrica. Proyecto FONDECYT 748/91.

284

INTERACCION FAGOSOMA-ENDOSOMA. (Phagosome-endosome interaction). Mayorga, L. S., Pitt, A., Colombo, M. I., Bertini, F., y Stahl P. D. IHEM, U.N.Cuyo-CONICET, Mendoza, Argentina y Dep. Cell Biol. & Physiol., Washington University, Missouri, U.S.A.

Los fagosomas recientemente formados intercambian material soluble y asociado a membranas con otras organelas intracelulares en un proceso que es fundamental para la maduración de los mismos a fagolisosomas. Se ha desarrollado un model experimental para estudiar este proceso en células intactas y en homogeneizados celulares. Se incubaron macrófagos murinos con S. aureus cubierto con un anticuerpo anti-dinitrofenol. El anticuerpo permaneció unido al S. aureus durante los primeros 10 min pero luego, merced a la acción de proteasas, fue liberado a la luz de los fagosomas. Estos fagosomas tempranos se comunicaron mediante conecciones tubulares con endosomas lo que posibilitó la difusión del anticuerpo a los endosomas y, viceversa, el ingreso de material endosomal a los fagosomas. Finalmente, una parte del anticuerpo fue recuperado en el medio extracelular. La fusión de fagosomas con endosomas fue reconstituida in vitro utilizando vesículas endocíticas cargadas con β-glucuronidas dinitrofenilada (ensayo bioquímico) o con oro coloidal (ensayo morfológico). Los ensayos in vitro mostraron que el mecanismo de reconocimiento y fusión es semejante, pero no idéntico, al que media la fusión entre endosomas. Los resultados indican que el fagosoma temprano se comunica con el compartimiento endosomal lo que le confiere características propias de este compartimiento, tales como alta fusogenicidad y capacidad de reciclar material a la superficie.

285

INHIBICIÓN ESTERICA DE LA MOVILIDAD DE DINEINA CITOPLASMATICA Y KINESINA POR MAP2. (Steric inhibition of cytoplasmic dynein and kinesin motility by MAP2). Lopez, L. A. y Sheetz, M.P. Dept. Cell Biol. Duke University. U.S.A. e IHEM. Mza, Argentina.

Utilizando varios ensayos de movilidad in vitro, encontramos que la movilidad generada por los motores microtubulares, kinesina y dineina citoplasmatica, puede ser inhibida por MAP2 pero no por la proteína tau o los fragmentos proteoliticos de MAP2. En ensayos de movilidad de microtubulos (gliding), la presencia de MAP2 en los microtubulos (en relación 1 MAP2:20 tubulina) causo la inhibición del 75% utilizando baja concentración de proteínas motoras. El porcentaje de inhibición disminuyo con el aumento de las proteínas motoras sugiriendo que la inhibición es el resultado de la competición por acceso a la superficie del microtubulo. Para determinar si la competición es por sitios especificos en el MT, usamos la proteína tau y fragmentos proteolíticos de MAP2 para decorar los MTs. No fue observada inhibición e incluso hubo un incremento de actividad en los microtubulos decorados con tau. Debido a que tau, fragmentos de MAP2 y MAP2 se unen al mismo sitio de tubulina, es improbable que la inhibición de movilidad se debiera a una competición por el sitio. Por el contrario sugerimos que el brazo de MAP2 interfiere con la interacción de los motores con el MT y causa un dramático incremento en el numero de MT que se desconectan. In vivo, MAP2 podría jugar un rol muy importante en la generación de polaridad celular por la inhibición del transporte microtubular en sitios especificos del citoplasma.

BIOQUIMICA II

286

XILANASAS Y ACETIL XILANO ESTERASAS DE *Penicillium purpurogenum*: PURIFICACION Y PROPIEDADES. (Xylanases and acetyl xylan esterases of *Penicillium purpurogenum*: purification and properties). Belancic, A., Egaña, L., Steiner, J. y Eyzaquirre, J. Lab. de Bioquímica, Universidad Católica de Chile y Lab. de Microbiol., Fac. de Ciencias Quim. y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La biodegradación del xilano es un proceso complejo, participando diversas enzimas secretadas por hongos o bacterias, y es importante en la sacarificación de madera y residuos agrícolas. Se encuentra en estudio el sistema xilanolítico de una cepa de *P. purpurogenum* aislado de suelo que crece muy bien en paja, material rico en xilano.

El hongo fue crecido en medio líquido a 28º con varias fuentes de carbono y nitrógeno. Las enzimas se estudiaron en sobrenadantes del cultivo. Actividad xilanásica se midió con xilano de abedul, estimando poder reductor con dinitrosalicilato. Acetil xilano esterasa se determinó midiendo acetato liberado de acetil xilano por HPLC o un método enzimático.

Por filtración molecular se observan 2 formas principales de xilanasas que han sido purificadas a homogeneidad y son glicoproteínas. La xilanasa A tiene peso molecular 33 000, pH óptimo 7 y temperatura óptima 60º. La forma B peso molecular 23 500, pI 5,9, pH óptimo 3,5 y temperatura óptima 50º. Suero anti B no reacciona en forma cruzada. La producción de acetil xilano esterasa es óptima con xilano acetilado como fuente de carbono. Un zimograma muestra al menos 2 isoenzimas.

Financiamiento: proyectos FONDECYT 90-0822 y UNIDO 91/065.

287

LOCALIZACION SUBCELULAR Y PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LA APIRASA DE PLACENTA HUMANA NORMAL. (Subcellular localization and physico-chemical properties of normal human placenta) Valenzuela, M.A., Banda, A., Briones, A.* y Silva, M.A.* Depto Bioquímica y Biología Molecular. Fac. de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, *Fac. Medicina. U. de Chile.

Estudios previos en placenta humana indican una acción antiagregante plaquetaria de la apirasa por su actividad ADPásica. Para confirmar esta hipótesis hay que conocer su localización subcelular. La baja actividad ADPásica en ciertas patologías placentarias con alteración de flujo sanguíneo, podría ser debido a disminución de actividad apirásica.

Las actividades ATPasa-ADPasa y 5'AMPasa microsomal de placenta normal se ubican en gradiente contínua a una concentración de 39,5% de sacarosa. Esta fracción de membrana plasmática no está contaminada con G-6-Pasa, marcadora de retículo, la que se detectó a una concentracón de sacarosa de 25% . Una localización tipo ectoenzima de la apirasa apoyaría la función propuesta para ella.

La caracterización físicoquímica de la enzima de tejidos normales es necesaria para compararla con la de casos patológicos. Los datos encontrados para la actividad ADPásica fueron: pI de 4.7 y una M.M. de 60 kDa por irradiación con ^{45}Co.

Finalmente se ha comenzado el estudio de estadístico de los niveles de esta enzima en placentas normales. Se han encontrado en 12 casos 0,165 + 0,039(SD) U/mg para la ADPasa y 0,119 + 0,031(SD) U/mg para la ATPasa.

288

MODIFICACION QUIMICA DE LAS ACTIVIDADES FOSFOMONOESTERASA Y DIFOSFOHIDROLASA DE *E. coli*. (Chemical modification of phosphomonoesterase and diphosphohydrolase activities of *E. coli*). García, L. y Kettlun, A.M. Depto Bioquímica y Biología Molecular. Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas. U. de Chile. (Patrocinio: L. Chayet).

En el espacio periplásmico de *E. coli* hay una enzima con actividad fosfomonoesterásica y difosfohidrolásica. Esta enzima tiene una gran inespecificidad por los nucleosidos mono, di y trifosfatos. Se ha elegido ATP y ADP como índice de la actividad difosfohidrolásica y 5'AMP de la esterásica. Para saber si estas dos actividades corresponden a un mismo o a diferentes sitios activos, se ha iniciado el estudio con modificadores químicos selectivos de aminoácidos.

Las actividades ATPasa, ADPasa y 5'AMPasa son inactivadas con dietilpirocarbonato. Sin embargo ningún sustrato (en presencia o ausencia de Ca^{2+}) protege de la inactivación; lo cual descarta la participación de la *his* en el sitio activo.

La carbodiimida soluble inactiva también a estas actividades; sin embargo hay protección por los respectivos complejos sutrato-Ca^{2+}. Esto sugiere la participación de residuos carboxílicos en el sitio activo de las actividades fosfomonoesterasa y difosfohidrolasa. El hecho que el nucleotido protege sólo en presencia de Ca^{2+} y que las tres actividades son absolutamente dependientes de catión bivalente, sugiere que el verdadero sustrato es el complejo nucleotido-metal.

Financiado por Proyecto Fondecyt 90-1006.

289

DEMOSTRACION DE LA PRESENCIA DE UN COMPONENTE PROATEROGENICO EN EL ACEITE DE PESCADO Y ACEITES POLIINSATURADOS. (Demonstration of the presence of a proatherogenic component in fish oil and polyunsaturated oils). Montero E., Skorin C., Guasch V., Solis de Ovando F., Luci C., Leighton F y cols. Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos, Universidad Católica de Chile.

Las enfermedades cardiovasculares, principalmente arterioesclerosis, constituyen la primera causa de muerte en Chile y en los países más desarrollados. La teoría oxidativa de aterogénesis, señala que al oxidarse las LDL son captadas por macrófagos que se acumulan en el subendotelio arterial, dando lugar a las estrías lipoídeas que revelan el comienzo de la arterioesclerosis. Evidencias epidemiológicas y experimentales sugieren que los aceites de pescado (ricos en ácidos grasos poliinsaturados de la serie w-3) reducen el riesgo de arterioesclerosis en humanos. El ser susceptibles a la oxidación, sugiere que entre sus multiples efectos biológicos, predominantemente antiaterogénicos, hay un componente proaterogénico. Nuestro objetivo fue evaluar si los aceites de pescado, y otros aceites poliinsaturados, ejercen un efecto prooxidante *in vivo* sobre las LDL en humanos, y si causan aumento de su susceptibilidad a la oxidación *in vitro*. Los parámetros evaluados fueron, la formación de dienos conjugados, la medición de productos de oxidación(TBARS), los grupos amino libres de la apo B-100 de LDL, migración electroforética, degradación por macrófagos, y antioxidantes. Hombres jóvenes, con una dieta libre recibieron suplemento de aceite de pescado en dosis 6g/día, o aceite de oliva o maravilla 20 ml/días, por 30 días. Se encontró evidencias de daño oxidativo en la LDL post-suplementación. Se observó un aumento en la susceptibilidad a la oxidación in vitro. Concluimos que efectivamente hay un componente proaterogénico en los aceites poliinsaturados, incluyendo el aceite de pescado, un efecto contrarrestado por los efectos antiaterogénicos que serían aparentemente predominantes. Estos resultados enfatizan la necesidad de una adecuada suplementación antioxidante cuando se aporta ác.grasos poliinsaturados.(Financ. Fond. 732/91 y 98/92).

290

EFECTOS PROOXIDANTES DEL CONSUMO DE ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (AGPI) n-3 Y RESPUESTA ADAPTATIVA DEL ORGANISMO A SU INGESTA. (Prooxidant effects of polyunsaturated fatty acids (PUFA) n-3 intake and adaptative behaviour of the rat organism to its ingestion). Garrido, A. y Gárate, M. Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos, INTA, U. de Chile. (Patrocinio: A. Valenzuela)

Los efectos biológicos del consumo de AGPI n-3, presentes en los aceites de origen marino son de interés por su acción beneficiosa para la salud humana derivada de su ingesta. Paralelamente, se han propuesto posibles riesgos, inherentes al consumo de estos ácidos grasos. Nuestro grupo ha caracterizado algunos aspectos del riesgo de estres oxidativo derivado de la ingesta de altas dosis de aceite de pescado en ratas jóvenes y envejecidas encontrandose un aumento de la susceptibilidad de membranas a lipoperoxidar in vitro, con una importante disminución de los niveles de vit. E. modificaciones de los niveles de glutation reducido y disminución de algunas actividades enzimáticas como glucosa-6-fosfatasa y 5' nucleotidasa en microsomas hepáticos.
En este trabajo se midió la susceptibilidad al hemolizar de suspenciones de eritrocitos expuestos a iniciador de radicales libres 2,2'-Azo-bis (2-amidino propano) (ABAP), a diferentes tiempos. Los eritrocitos provenientes de animales que consumen AGPI n-3 son mas susceptibles a hemólisis. En este mismo sistema utilizando eritrocitos de ratas normales, se midió la capacidad antioxidante del plasma (CAP), de los plasmas provenientes de estos animales y se demuestra que los que consumen AGPI n-3, aumentan su CAP. La suplementación con vit. E mejora algunas de estas respuestas bioquímicas, dependiendo de la edad del animal estudiado.
Proponemos que junto con los cambios que representan un riesgo para el organismo hay una respuesta adaptativa que hemos caracterizado como un aumento de la capacidad antioxidante del plasma. CAP.
Proyecto FONDECYT 683-92.

291

PERDIDA DE LA COOPERATIVIDAD HACIA EL INHIBIDOR AMP EN UN DERIVADO FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA-FENILGLIOXAL SENSIBLE AL NUCLEOTIDO. (Loss of cooperativity towards AMP in a fructose 1,6-bisphosphatase-phenylglyoxal derivative inhibited by the nucleotide). Mellado, R.G., Cárcamo, J.G., y Slebe, J.C., Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

La enzima tetramérica fructosa-1,6-bisfosfatasa de riñón de cerdo es inhibida en forma alostérica y cooperativa por AMP. En el estudio de estos fenómenos a través de la modificación química con fenilglioxal (FGO), se ha descrito el posible compromiso de dos residuos de arginina por subunidad (Cárcamo, J.G., Arch. Biol. Med. Exp., 24, R-172, 1991). Se demostró que el bloqueo de uno de ellos altera la sensibilidad de la enzima a este nucleótido, y se sugirió, que el segundo residuo estaría relacionado con la interacción cooperativa entre los sitios de unión de AMP.

En el trabajo que presentamos ahora, mostramos condiciones selectivas de modificación con FGO, en donde sólo ocurre una rápida pérdida del efecto cooperativo en la inhibición por AMP. En estas condiciones, a los 20 min de modificación, el índice de cooperatividad (n_H) llega a un valor muy cercano a 1, mientras que otros parámetros de la enzima, tales como actividad catalítica, activación por cationes monovalentes, sensibilidad de la enzima al nucleótido, entre otros, permanecen prácticamente inalterados. La cinética de alteración del n_H es de pseudo-primer orden, con dos moléculas de FGO uniéndose por residuo de arginina. La velocidad de incorporación de [^{14}C]-fenilglioxal a la enzima se relaciona directamente con la alteración de la cooperatividad.

Se están utilizando estas condiciones para identificar en la estructura primaria el residuo de arginina implicado en la interacción cooperativa entre los sitios de unión de AMP. (DID-UACH RS-92-40 y FONDECYT 92/150).

292

IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE DnaK Y GroEL HOMOLOGAS EN *Thiobacillus ferrooxidans*. (Identification and characterization of DnaK and GroEL homologues in *Thiobacillus ferrooxidans*). Patricia Varela y Carlos A. Jerez. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La respuesta al estrés térmico induce la síntesis de al menos 17 proteínas en *Escherichia coli*, siendo las proteinas DnaK y GroEL las que se inducen mayoritariamente en esta bacteria. Estas proteínas son chaperoninas moleculares que protegen de la desnaturalización térmica de las proteínas. En *Thiobacillus ferrooxidans* hemos identificado, mediante técnicas inmunológicas (western blot) y análisis de la secuencia aminoacídica del extremo N-terminal, dos proteínas mayoritarias inducibles por estrés térmico que son equivalentes a la DnaK y GroEL de *E. coli*. Ellas mostraron un 80 y 70% de homología con DnaK y GroEL respectivamente. Por otro lado, el empleo de electroforesis en condiciones no desnaturalizantes, con gradiente transversal y posterior western blot, mostró que la proteína de *T. ferrooxidans* equivalente a *GroEL* forma estructuras oligoméricas de catorce subunidades similar a la GroEL en *E. coli*. La DnaK de *E. coli* presentó estructura dimérica y monomérica, mientras que la proteína de *T. ferrooxidans* equivalente a DnaK presentó sólo estructura monomérica.
Financiado por Proyecto Fondecyt 91-1010, UNIDO y SAREC.

293

LAS ENDOTELINAS INDUCE LA RUPTURA DE FOSFOINOSITIDOS EN LA BARRERA HEMATOENCEFALICA. (Endothelins induce breaking of the phosphoinositides in blood brain barrier) Díaz, G.A, Catalán,R.E., Martínez, A.M. y Aragonés,M.D. Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, U. de Antofagasta, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias, U. Autónoma de Madrid, y Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas, U. Complutense de Madrid (Patrocinio: S.Lavandero).

Las endotelinas son una familia de isopéptidos con diversas acciones biológicas sobre todo a nivel vascular. Por otro lado, la barrera hematoencefálica (BHE) está formada principalmente por los microvasos intracerebrales, los que llevan a cabo procesos esenciales para una correcta funcionalidad del SNC. Por esta razón, se estudió si las endotelinas ejercían alguna acción sobre la BHE, modulando por lo tanto, alguna de las funciones que ésta lleva a cabo. Los microvasos intracerebrales se purificaron de la corteza cerebral de la rata y posteriormente se incubaron con ^{32}P. Los fosfoinositidos se separaron por cromatografía en capa fina, identificados por autoradiografía y contados por centelleo líquido. Las endotelinas 1 y 2 indujeron una disminución en el marcaje de los fosfoinositidos (PIP2, PIP y PI) de una manera dependiente de la dosis y del tiempo. La máxima disminución se observó al minuto de exposición a los péptidos, y la mínima dosis para producir el máximo efecto fue 100 nM. Paralelamente a ello se produjo un aumento en la síntesis de ácido fosfatídico (PA), con un máximo a los 5 minutos y una dosis mínima de 100 nM para el máximo efecto. La dosis efectiva 50 (DE50) fue 8 nM para ambos péptidos. Por otro lado, los efectos de la Endotelina 3 fueron cuantitativamente menores que los observados con las Endotelinas 1 y 2, y su DE50 fue 400 nM. En resumen, la BHE es un tejido diana de las endotelinas 1 y 2, las cuales actúan probablemente a través de la activación de la fosfolipasa C.

294

EFECTO DE PEPTIDOS DE ACIDO GLUTAMICO Y TIROSINA SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA SUBUNIDAD α DE LA CASEINA QUINASA II DE *Xenopus laevis*. (Effect of glutamic acid and tyrosine peptides on the activity of the α subunit of casein kinase II from *Xenopus laevis*.) Tellez, R. y Connelly, C. Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina y Depto. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La caseína quinasa II (CQII) es una serina/treonina proteína quinasa presente en las células eucarióticas tanto en el núcleo como en el citoplasma. Estudios anteriores de este laboratorio mostraron que un copolímero al azar de ácido glutámico y tirosina en proporción 4:1 es mucho mejor inhibidor de la CQII que el ácido poliglutámico, presentando un I_{50} dos órdenes de magnitud inferior al I_{50} de este último. También se encontró que el péptido sintético YYEEEEEEEEE (Y_2E_9) es mejor inhibidor que el péptido EEEEEEEEEYY (E_9Y_2). Estos resultados nos indicaron que la presencia y ubicación de la tirosina es importante para incrementar la afinidad de la enzima por secuencias de aminoácidos ácidos. Al clonarse y expresarse en el laboratorio las subunidades α (catalítica) y β (reguladora) (Jedlicki et al. FEBS Lett. 297, 280-284, 1992), las cuales constituyen el tetrámero $\alpha_2\beta_2$ de la CQII, fue posible probar el efecto de estos péptidos y polipéptidos sobre la actividad de la subunidad α de la enzima y la enzima reconstituida. Los resultados muestran que la subunidad α es menos sensible a la presencia de tirosina pues el copolímero glutámico:tirosina 4:1 tiene un I_{50} sólo un orden de magnitud inferior al I_{50} del ácido poliglutámico. También observamos que con la subunidad α, el I_{50} del péptido Y_2E_9 no es significativamente diferente del I_{50} del péptido E_9Y_2. Al probar el efecto de estos péptidos sobre la enzima recombinante α + β encontramos que ésta se comporta en forma semejante a la holoenzima. Estos resultados nos indican que la subunidad β es importante para incrementar la afinidad de la CQII por secuencias constituidas por tirosina y ácidos glutámicos y esta subunidad sería necesaria para el reconocimiento de la posición de la tirosina en tales secuencias.
(Apoyado por The Council for Tobacco Research y FONDECYT.)

295

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO DE METALES SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA HOLOENZIMA DE CASEINA QUINASA II, SU SUBUNIDAD α Y LA ENZIMA RECONSTITUIDA. (Comparative study about the activity of the casein kinase II holoenzyme, its α subunit and the reconstituted enzyme.) Gatica, M. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La caseína quinasa II (CQII) de oocitos de *Xenopus laevis* es una enzima cuyas subunidades α y β han sido clonadas en nuestro laboratorio (Jedlicki, A., et al. FEBS Lett. 297, 280-284, 1992) y posteriormente expresadas y parcialmente purificadas. En el trabajo se presenta una comparación del efecto de diferentes metales sobre la actividad de la enzima de oocitos y de la subunidad α (CQIIα) y de la enzima reconstituida (CQIIα + β). La CQIIα presenta una menor dependencia de metales monovalentes para su actividad máxima que no tiene una gran variación entre 30 y 100 mM. Esto muestra diferencias con la actividad máxima de la holoenzima que necesita 150 mM de KCl y 180 mM de NaCl. Los metales bivalentes (Zn^{++}, Mn^{++}, Co^{++}, Cu^{++} y Ni^{++}) son en general inhibidores de la actividad tanto de la CQII de oocitos como de la CQIIα sola y CQIIα + β reconstituida, cuando se miden en presencia de 10 mM $MgCl_2$. Estudios con $NiCl_2$ muestran que la subunidad α es más sensible a la presencia de este metal, particularmente a concentraciones altas de $MgCl_2$, comparada con la de la holoenzima. El Mn^{++} y el Co^{++} pueden ser utilizados en lugar de Mg^{++} tanto en fosforilaciones con ATP como con GTP. Tanto la subunidad α como la holoenzima muestran una $V_{máx}$ relativa mayor en presencia de GTP-Mn^{++} que en presencia de ATP-Mn^{++}. Las $K_{m\ app}$ de la holoenzima y de la CQIIα usando ATP o GTP y Mg^{++} o Mn^{++} son esencialmente iguales.

(Este trabajo ha sido apoyado por The Council for Tobacco Research y por FONDECYT.)

296

AGENTES CANCERIGENOS Y MUTAGENOS PRESENTES EN EL AIRE DE SANTIAGO MODIFICAN EN RATAS EL METABOLISMO MICROSOMAL HEPATICO DE ACIDOS GRASOS. (Carcinogenic and mutagenic agents present in Santiago's air modify in rat the fatty acids liver microsomal metabolism). Vignolo P., Adonis M. and Gibson G. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Molecular Toxicology Research Group, University of Surrey, England. (Patrocinio: O. Fuentes).

El sistema de monooxigenasas contiene una superfamilia de isoenzimas citocromo P-450 las cuales metabolizan sustratos lipofílicos endógenos (ácidos grasos, hormonas esteroidales) y exógenos (fármacos, contaminantes ambientales). La isoenzima citocromo P-450 IV A1 catalizala hidroxilación en posiciones w y w-1 de ácidos grasos. Diversos estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado que la desnutrición induce esta isoenzima y las actividades para hidroxilar en posiciones w y w-1 ácidos araquidónico y láurico. Trabajos de nuestro grupo han demostrado que extractos orgánicos del material particulado del aire de Santiago (EOMPA) contienen altas concentraciones de al menos 16 hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) entre los que se encuentran varios carcinogénicos. Ensayos de estos extractos utilizando el test de Ames han demostrado que éstos son altamente mutagénicos. En este estudio se muestra el efecto de HPAs, de nitroarenos y de diferentes EOMPA, sobre el metabolismo in vitro del ácido láurico. Ratas macho, Wistar, 35 días de edad fueron inyectadas con Benzo(a)pireno (BaP), 1-nitro-pireno (1-NP), EOMPA (fracción total y fracción respirable) y extractos del material particulado de motores diesel. La actividad ácido láurico hidroxilasa se determinó por HPLC en fase reversa, identificando y cuantificando los productos hidroxilados en posición w y w-1. La isoenzima P-450 IV A1 fue analizada en las distintas preparaciones por Western Blot. La administración de: BaP, 1-NP, EOMPA (fracción total y fracción respirable) y extractos del material particulado de motores diesel produjo los siguientes efectos: a) aumento en el contenido total de citocromo P-450, y desplazamiento a menores longitudes de onda del pico de máxima absorción del complejo P-450 reducido - CO, b) disminución considerable en la actividad para hidroxilar in vitro ácido láurico en posiciones w y w-1 y c) disminución en el contenido de la isoenzima P-450 IV A1. Estos resultados sugieren que los HPAs y los nitroarenos que se respiran en el aire de Santiago alteran la composición de isoenzimas citocromo P-450 afectando el metabolismo de ácidos grasos y posiblemente de otros sustratos endógenos. (FONDECYT 1314-91, OEA 03-91-52B -290 CHI y British Council).

FARMACOLOGIA – FISIOLOGIA II

297

ROL DE LA FUMARATO REDUCTASA EN LOS PROCESOS BIOENERGETICOS DEL *Trypanosoma cruzi*. (Role of Fumarate reductase in bioenergetics process of T. cruzi). Palomino, A., Monteverde, P. y Coloma-Torres, L. (*). *Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y (*) Departamento de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.*

Los procesos de obtención de energía del protozoo Trypanosoma cruzi, presentan varias diferencias de los mamíferos que parasita.
En el presente trabajo se estudió el funcionamiento de la fumarato reductasa, actividad enzimática que realiza la reacción reversa a la succinato deshidrogenasa, esto es, produce succinato a partir de fumarato, utilizando NADH como sustrato reductor.
La actividad fumarato reductasa es inhibida por 3-metoxifenil acetato (MPA, I_{50} = 10 mM). Esta inhibición sigue una cinética de tipo cooperativo (Indice de Hill = 1,66).
Esta droga también produce inhibición del consumo de oxígeno en las células intactas y en el crecimiento de cultivos de formas epimastigotas del parásito en el mismo rango de concentraciones que las necesarias para afectar la actividad fumarato reductasa.
La acción del MPA sobre los procesos bioenergéticos del *T. cruzi* se comprobó al estudiar su efecto sobre el estado redox de algunos componentes mitocondriales. Se observó que el NADH es afectado por el MPA, reduciéndose, a diferencia de los estados redox de los citocromos b y c, los cuales no cambian .
Financiado por DTI, FONDECYT 91-1312, SAREC.

298

RESPUESTA DEL *Trypanosoma cruzi* FRENTE AL ESTRES. INDUCCION DE PROTEINAS DE SHOCK. (Stress response in *T. cruzi*. Shock-protein induction). Spencer, P., Traipe, L. y Alduna-te, J. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, no posee mecanismos defensivos eficientes contra los radicales libres. Actualmente se usan como drogas para tratar la enfermedad de Chagas : el Nifurtimox y Benznidazol. En el caso del Nifurtimox, se sabe que su acción tripanosomicida se debe a la generación de radicales libres productos de la droga misma, y de reducción parcial del oxígeno.
Interesados en estudiar las respuestas del *T. cruzi* frente al estres oxidativo, se analizó la inducción de proteínas de estres en el parásito tratados con Nifurtimox y se comparó con otra situación de estres como es el calor. En ambas situaciones se expusieron formas epimastigotas del protozoo al agente estresante y posteriormente se incubaron con metionina-S-^{35} y se analizó en geles de poliacrilamida-SDS los cambios en las proteínas sintetizadas. El *T. cruzi* responde frente al calor con la síntesis de proteínas de shock (hsp65, hsp70 y hsp55). Al exponerlas al Nifurtimox se observa una disminución generalizada de la síntesis proteica con la inducción de proteínas de peso molecular 65 y 50 kD.
Estos resultados indican que el parásito puede producir modificaciones en la síntesis de proteínas como respuesta al estres oxidativo.
Financiado por DTI, FONDECYT 91-1312, SAREC.

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

INDICE DE AUTORES

A

Abarca, J.: R 90
Aboitiz, F.: R 37
Acevedo, C.G.: R 32
Acosta, A.M.: R 52
Acuña, A.: R 102
Acuña, H.O.: R 102
Acuña, P.: R 61
Adonis, M.: R 110
Agosin, E.: R 56
Aguayo, J.: R 120
Aguayo, L.G.: R 89
Aguilera, J.G.: R 36
Aguillón, J.C.: R 119
Ahumada, A.: R 51
Ahumada, R.M.: R 102
Alarcón, J.M.: R 89
Alarcón, M.: R 116
Alarcón, R.: R 93
Alarcón, S.: R 38
Alberdi, M.: R 23, R 88
Albertini, R.: R 34
Albornoz, J.: R 49
Alcayaga, C.: R 97
Alda, L.: R 82
Aldunate, J.: R 110
Aliaga, E.: R 97
Allende, J.E.: R 114
Alliende, C.: R 105
Almendras, F.E: R 100.
Alvarez, A.: R 53
Alvarez, J.: R 40
Alvarez, M.: R 65
Alvarez, P.: R 43
Alvarez, S.: R 55
Amigo, L.: R 43
Anabalón, M.: R 47
Andersson, R.: R 119
Andrade, R.: R 26
Angel, M.:R 34
Angelo, S.: R 94
Antonelli, J.M.:R 113
Appel, G.: R 63
Aragonés, M.D.: R 129
Aranda, M.: R 69
Araya, A.: R 29
Araya, B.: R 111
Arce, P.: R 72
Argandoña, V.H.: R 88
Arias, T.:R 102
Armesto,, J.J.: R 19, R24, R 82
Arriagada, J: R 93
Arriagada, M.A.: R 48
Arriaza, C.: R 37
Arroyo, M.T.K.: R 19, R 84
Arteaga, A.: R 52
Aruti, D.: R 67
Ascencio, G.: R 56
Atwater, I.: R 20
Avalos, S.: R 60
Avila: R 82

B

Bacigalupo, J.: R 26, R 27, R 39
Baeza, R.: R 38
Banda, A.: R 107
Bannach, R.: R 112
Barahona, C.: R 95
Barbieri, A.: R 51
Bardisa, L.: R 62
Barnett, O.W.: R 97
Barra, V.: R 35
Barría, A.: R 48
Barrientos, M.: R 87
Barros, C.: R 46
Bastías, J.M.: R 69
Basulto, C.: R 116
Be,C.: R 104
Becker, M.I.: R 29, R 64
Begu, D.: R 29
Behrens, M.I.: R 98
Belancic, A.: R 107
Belayew, A.: R 28
Belmar, M.: R 106
Beltrami, M.: R 94
Beltrán, M.: R 60
Benavente, F.: R 38
Benitez, J.: R 92
Berón, W.: R 106
Bertini, F.: R 17, R 51. R 106, R 107
Besa, J.P.: R 47
Bhoola,K.D.: R 42
Bifani, V.: R 85
Bitrán, M.: R 33
Bocaz, G.: R 114
Boeuf, G.: R 28
Bolumburu, M.J.: R 100
Bonansco, C.: R 59
Boric, M.P.: R 34
Bozinovic, F.: R 79
Bozzo, S.: R 68
Brandan, E.: R 104
Brañes, M.C.: R 43
Brante, H.: R 96
Bravo, I.: R 95
Bravo, L.: R 87
Bravo, R.: R 22, R 26
Bretos, M.: R 100
Brim, H.: R 28
Briones, A.: R 1O7
Briones, C.: R 37
Brito, M.:R 17, R 112, R 113
Bronfman, M.: R 23
Bruce, E.: R 67
Bull, P.: R 114
Bull, R.: R 60
Bunster, M.: R 57
Burgos, M.: R 46, R 102
Burzio,L.O.: R 17, R 29, R 112, R113
Bustamante, R.O.: R 82
Bustos, G.: R 90

C

Caamaño, V.: R 88
Cabanillas, K.: R 43
Cabrera, H.M.: R 88
Cabrera, S.: R 68
Cáceres, C.W.: R 77
Cáceres, J.: R 114
Cachicas, V.: R 119
Cádiz, R.: R 66
Calderón, F.: R 25
Calderón, X.: R 69
Cambra, J.: R83
Campos, E.O.: R 72
Campos, G.: R 36
Campos, M.: R 114
Campos, R.: R 111
Campusano, C.: R 117
Cancino, C.: R 91
Canitrot, M.: R 39
Cantillana, V.: R 40
Caorsi, C.E.: R 35
Caorsi, I.: R 64
Capetillo, M.: R 95

Cárcamo, J.G.: R 108
Cardemil, L.: R 87
Cárdenas, A.: R 36
Cárdenas, E.: R 83
Cárdenas, H.: R 61
Cárdenas, L.: R 43
Carrasco, A.: R 976
Carrasco, D.: R 26
Carrasco, G.: R 95
Carrasco, I.: R 49
Carrasco, M.A.: R 98
Carrasco, P.: R 86
Carrasco, X.: R 39
Carrillo, R.: R 81
Carroll, P.: R 20
Cartagena, G.: R 25, R90
Carú M.: R 79
Carvajal, N.: R 54
Casanueva, M.E.: R 75
Castañeda, P.: R 70
Castillo, R.: R 50
Castillo, T.: R 49
Castro, O.: R 49
Catalán, L.: R 52
Catalán, R.E.: R 109
Cavicchia, J.C.: R 101, R103
Caviedes, P.: R 91
Caviedes, R.: R 106
Cavieres, L.: R 84
Cecchi, X.: R 97
Celedón, G.: R 96
Celis, R.: R 45
Cepeda-Pizarro, J.G.: R 77
Ceppi, H.: R 44
Cerda, M.: R 73
Cespedes, J.: R 100
Céspedes, R.: R 55
Cid, H.: R 57
Cifuentes, F.: R 57
Cifuentes, M.: R 41
Cifuentes, V.: R 68
Clasing, E.: R 56
Cofré, S.D.: R 68
Collados, L.: R 53
Coloma S.,L.: R 100
Coloma-Torres, L.: R 110
Colombo, M.I.: R 107
Comella, J.X.: R 21
Compagnon, D.: R 44
Concha, I.I.: R 17, R113
Concha, M.: R 64
Conejeros, C.: R 61
Connelly, C.: R 109
Contador, R.: R 106
Contreras, A.: R 86
Contreras, B.: R 116
Contreras, E.: R 62
Contreras, H.: R 49
Contreras, J.: R 100
Contreras, L.C.: R 77
Contreras, M.: R 32
Contreras, R.: R 94
Contreras, S.: R 99
Corbalán, L.,M.P.: R 34
Corcuera, L.J.: R69
Córdoba, A.: R 95
Córdoba, A.M.: R 88
Correa, J.: R 79
Correa, R.: R 40
Cortés, A.: R 78
Cortes, J.: R 46
Cortés, M.: R 85
Cortés, M.: R 106
Cortes, P.: R 38
Cortez, J.: R 61
Corvalan, A.: R 43
Cotorás, D.: R 21, R 55
Cotorás, M.: R 56
Cristi, R.: R 87
Croxatto, H.B.: R 48
Croxatto, H.R.: R 34
Cruz, M.A.: R 49
Cuevas, J.: R 39
Cunill, E.: R 34

CH

Chayet, L.: R 53
Chiong, M.: R 70

D

Dabiké, M.: R 106
De Ioannes, A.E.: R 29, R 119
De la Fuente, G.: R 54
De la Fuente, M.: R 57
De Marinis, A.: R 93
De Rosas, J.C.: R 101, R103
Delgado, C.: R 74
Delgado, F.: R 17, R 112, R 113
Delgado, R.: R 27, R 97
Dell'Orto, P.: R 65
Delpiano, M.A.: R 58
Devés, R.: R 94
Devoto, L.: R 49
Díaz, E.: R 39
Díaz, F.: R 52
Díaz, G.A.: R 109
Díaz, M.A.: R 97
Díaz, N.F.: R 100
Díaz, Y.: R 89
Díaz-Barraza, M.: R 75
Díaz-Véliz, G.: R 38
Diehl, H.: R 119
Dobrzanski, P.: R 26
Donoso, P.: R 20, R99
Dorta, P.: R 86
Dubey, S.: R 22
Dubocovich, M.L.: R 19, R30
Duk, S.R.: 116
Duran, M.:R 35
Dussaubat, N.: R 95
Dutra-Behrens, N.: R 71

E

Ebensperger, R.: R 25, R42
Egaña, E.:R 91, R 107
Eisner, D.: R 20
Elgueta, F.: R 116
Elgueta, M.: R 84
Elizalde, J.J.: R 64
Ellahueñe, M.F.: R 68
Ellies, Y.: R 91
Engelke, M.: R 119
Enríquez, S.: R 52
Epstein, C.J.: R 92
Erazo G., S.: R 72
Errázuriz, C.: R 114
Escanilla, D.: R 63
Escobar, M.: R 96
Escobedo, J.A.: R 29
Espejo, E.: R 55
Espejo, R.: R 63
Espinoza, P.: R 71
Espinoza, S.: R 37
Estay, F.J.: R 100
Etcheberrigaray, R 85 C.:
Eyzaguirre, J.: R 56, R 107

F

Fantl, W.J.: R 29
Farias, G.: R 45
Farias, J.: R 66
Faúndez, V.: R 25
Fernández, E.: R 85
Fernández, G.: R 81
Fernández, J.: R 51
Fernández, J.: R 67
Fernández, J.: R 88
Fernández, M.: R 112, R113

Fernández, V.: R 38
Ferrada, D.: R 86
Ferrari, F.: R 92
Ferreira, J. R 119
Fiedler, J.L.: R 92
Figueroa, C.: R 106
Figueroa, H.: R 84
Figueroa, H.: R 117
Figueroa, J.: R 42
Figueroa, P.: R 17, R113
Figueroa, P.: R 113
Figueroa, S.: R 98
Figueroa,C.D.: R 42
Fill, M.: R 59
Fleckenstein R 62, R.:
Foncea, R.: R 25, R42
Fonseca, D.: R 67
Foradori, A.: R 12O
Forcelledo, M.L.: R 47
Fornés, M.: R 46
Foster, R.: R 36
Fuentealba, B.: R 48
Fuentes, J.E.: R 80
Fuentes, O.: R 53, R 94
Fuenzalida, H.: R 19
Fuenzalida, M.: R 101

G

Gaggero, A.: R 63
Gajardo, G.: R 48
Gallardo, C.S.: R 101
Gallardo, V.: R 49
Galleguillos, M.: R 53
Ganga, M.A.: R 115
Gangolli, S.: R 22
Gárate, M.: R 108
Gárate, M.: R 111
Garbarino, J.: R 119
Garcés, G.: R 64
García, C.: R 53
García, L.: R 108
García, M.A.: R 117
Garrido, A.: R 108
Garrido, J.: R 25, R105
Garrido, N.: R 101
Garrido, O.: R 99
Gatica, A.: R 92
Gatica, M.: R 109
Gazitúa, F.: R 57
George-Nascimento, C.: R 18
Germany, A.: R 89
Gerstberger, R.: R 35
Ghosh, S.: R 30
Gibson, G.G.: R 21, R110
Gil, L.: R 22, R53
Ginocchio, R.: R 32
Gnecco, S.: R 88
Godoy, H.: R 116
Godoy, J.A.: R 93
Godoy, R.: R 85
Gómez, C.: R 68
Gómez, I.: R 67
Gómez, P.: R 43
Gómez, S.: R 118
González, A.: R 25
González, A.: R 114
González, A.: R 120
González, C.: R 49
González, C.B.: R 35
González, D.: R 99
González, E.: R 66
González, G.: R 96
González, H.: R 114
González, I.: R 96
González, M.: R 115
González, M.J.: R 43
González, M.L.: R 80
González, M.P.: R 79
González, P.: R 89
González-Sepúlveda, M.A.: R 58
Goreux, A.: R 70
Gosset, C.: R 49
Greiner, M.: R 43
Grez, A.A.: R 32
Grimaldt, P.: R 51
Guarda, M.I.: R 119
Guasch, V.: R 108
Guerra, F.: R 36
Gutiérrez, A.: R 70
Gutiérrez, G.: R 113
Gutiérrez, J.R.: R 83
Gutiérrez, L.: R 102
Gyorke, S.: R 59

H

Harris, R.A.: R 17, R31
Hellemann, C.: R 100
Henríquez, C.A.: R 82
Hermann, R.: R 106
Hermosilla, G.: R 68
Hermosilla, J.: R 71
Hermosilla, T.: R 119
Hernández, A.: R 38
Hernández, J.F.: R 82
Hernould, M.: R 29
Herrera, C.: R 56
Herrera, E.: R 48
Herrera, H.A.: R 41
Herrera, S.: R 83
Hevia, E.: R 118
Heyn, R.: R 50
Hidalgo, C.: R 98
Hidalgo, J.: R 21, R 58
Hidalgo, M.E.: R 85
Hidalgo, P.: R 43
Hildebrandt-Vogel, R.: R 81
Hinrichs, M.V.: R 114
Hinrichsen, P.: R 55
Hoecker,G.: R 105
Holmes, D.: R 22
Holmgren, B.: R 92
Holmgren, J.: R 116
Holuigue, L.: R 65
Hubert, E.: R 86
Huidobro-Toro, J.P.: R 31, R89

I

Ibarra, P.: R 71
Ibarra-Vidal: R 76
Ihl, M.: R 85
Inestroza, N.C.: R 105
Infante, C.: R 37
Inostroza, H.: R 50
Irvine, R.F.: R 18, R 22
Iturra, G.: R 88
Iturri, S.J.: R 94
Iturriaga, L.: R 82
Iturriaga, R.: R 30
Izquierdo, L.: R 51

J

Jacob, G.: R 52
Jacobelli, S.: R 114
Jaimovich, E.: R 21, R 58
Jaksic, F.: R 77
Jalil, P.: R 98
Jamett, A.: R 64
Jara, C.G.: R 73
Jara, P.: R 41
Jara, P.: R 100
Jaramillo, R.: R 103
Jarnagin, K.: R 42
Jarvis, S.M.: R 95
Jaureguiberry, B.: R 63
Jedlicki, A.M.: R 114
Jedlicki, E.: R 66
Jerez, C.A.: R 109
Jiménez, H.E.: R 84

Jones, B.M.: R 61
Jordan, M.: R 70
Jordana, X.: R 65
Jorquera, J.: R 59
Jorquera, O.: R 27, R 97
Juica, F.: R 64
Jungbluth, D.: R 35

K

Kalergis, A.: R 119
Kappen, L.: R 24
Kausel, G.: R 65
Kawada, M.E.: R 44
Keil, R.: R 35
Kettlun, A.M.: R 108
Knowles, R.: R 90
Koenig, C.: R 104
Kohli, E.: R 115
Kossmann, H.J.: R 73
Kovary, K.: R 26
Krauskopf, M.: R 65
Kuncar, J.C.: R 55
Kuznar, J.: R 45

L

Labarca, P.: R 27, R97
Labarca, R.: R 90
Labra, A.: R 74
Lafuente-Indo, N.: R 68
Lagos, M.: R 39, R49
Lagos, N R 44
Lagos, R.: R 55
Lagos, R.: R 78
Lagos, V.O.: R 77
Lara, G.: R 80
Lara, H.E.: R 25, R 48
Larrañaga, C.: R 63
Lastra, A.: R 53
Lathrop, M.E.: R 95
Latorre, R.: R 97
Lavandero, S.: R 25, R42
Lazo, B.: R117
Leal, J.: R 64
Lee, G.: R 57
Legrand, A.M.: R 221
Leible, S.: R 34
Leighton, F.: R 108
Leiva, J.: R 37
Leiva, L.: R 46
Lemus, D.: R 101
Lemus, M.L.: R 75
León Lobos, P.: R 83
Léon P.: R 91
León, C.G.: R 47
León, G.: R 67
León, R.: R 68
Leonelli, G.: R 71
Leyton, C.: R 86
Liberona, J.L.: R 44
Lipchenca, I.: R 111
Lips, V.: R 96
Lissi,E.A.: R 96
Litvak, S.: R 29
Lobos, C.: R 114
Lopetegui, R.: R 65
López, C.: R 119
López, D.: R 80
López, I.: R 71
López, L.: R 96
López, L.A.: R 106
López, L.A.: R 107
López, P.: R 81
López-Callejas, M.V.: R 75
López-Solis, R.O.: R 105
Lorca, M.: R 120
Lovengreen, Ch. R 76:
Loyola, H.: R 90
Loyola, J.I.: R 60
Loyola, L.: R 94
Luci, C.: R 108
Lusk, C.H.: R 85
Lutz, M.: R 61
Luxoro, M.: R 58

LL

Llanos, M.: R 47

M

Madariaga, M.: R 103
Maldonado, C.: R 88, R 119
Maldonado, M.: R54, R102
Malenka, R.C.: R 27
Mancilla, M.: R 71
Mancinelli, P.: R 88
Manríquez, V.: R 54
Mansilla,J.: R 112
Manzano, M.: R 25
Mardones, L.: R 116
Marengo, J.J.: R 59
Mariani, M.L.: R 40
Marín, A.: R 69
Martial, J.A.: R 28
Marticorena, C.: R 81
Martin, N.: R 62
Martínez O., J.A.: R 54
Martínez, A.M.: R 109
Martinez, C.: R 68
Martinez, E.: R 79
Martínez, J.: R 104
Martínez, L.: R 34
Martínez, M.A.: R 115
Martínez, M.T.: R 67
Martinez, R.I.: R 75
Marusic, E.T.: R 111
Marzolo, M.P.: R 114
Matthei, O.: R 81
Maulén, N.: R 115
Maureira, H.: R 37
Mayorga, L.S.: R 107
Mazo, A.C.: R 42
Medel, R.G.: R 78
Medina, E.: R 23
Meléndez, J.: R 46
Mellado, R.G.: R 108
Mendoza, R.: R 95
Meneses, A.M.: R 17, R113
Meserve, P.L.: R 77
Messen, L.: R 105
Metz, C.A.: R 44
Meza-Basso, L.: R 71
Michea, L.: R 44
Mihovilovic, D.: R 56
Miquel, A.: R 52
Miranda, D.: R 63
Miranda, J.C.: R 39
Molgó, J.: R 21
Molina, A.: R 65
Molina, B.: R 41
Molina, X.: R 87
Moncada, S.: R 90
Montalar, Y.: R 96
Montecino, V.: R 87
Montecinos, H.: R 92
Montenegro, G.: R 23, R 32, R 82
Montero, E.: R 108
Monteverde, P.: R 110
Montiel, P.: R 69
Mora, S.: R 38
Morales, A.: R 103
Morales, B.: R 27, R39
Morales, B.A.: R 50
Morales, C.: R 45
Morales, F.: R 36
Morales, M.: R 91
Morales, M.N.: R 43
Morales, P.: R 39, R71
Morales, P.: R 47
Morello, A.: R 111

Moreno, R.D.: R 93
Morgado, N.: R 111
Morgan, C.: R 56
Moshref, M.: R 61
Mouras, A.: 4 29
Mujica, A.M.: R 82
Muller, A.: R 44
Müller, I.: R 118
Müller-Esterl, W.: R 42
Munizaga, A.: R 104
Muñoz, A.: R 88
Muñoz, H.: R 34
Muñoz, L.: R 103
Muñoz, T.M.: R 102
Muñoz-Pedreros, A.: R 78

N

Nalli, A.: R 35
Naranjo, E.: R 36
Nassar, V.: R 59
Navarro, J.: R 56
Norambuena, L.: R 65
Norris, B.: R 62
Novoa, F.F.: R 75
Núñez, M.T.: R 58
Nuñez, P.: R 105
Nuñez, R.: R 104

O

O'Neill, S.C.: R 20
O'Reilly M.,S.: R 72
Obando, M.: R 70
Ocaranza, M.P.: R 118
Ogden, J.: R 85
Ojeda, F.: R 119
Ojeda, F.P.: R 77
Oka, T.: R 26
Olate, J.A.: R 23, R113
Olea, N.: R 51
Oliger, P.: R 70
Olivares, A.: R 99
Olivieri, E.: R 50
Olmedo, M.I.: R 79
Ordenes, G.F.: R 43
Ordoñez, P.: R 46
Orellana, C.: R 55
Orellana, M.: R 45, R 68
Orellana, O.: R 66
Örn, A.: R 119
Orrego, F.: R 87
Ortiz de Bet, L.: R 103
Ortiz, C.: R 87
Ortiz, J.C.: R 76
Ortiz, M.E.: R 48
Osses, M.: R 48
Osses, N.: R 95
Oyarzún, M.J.: R 95

P

Pacheco, P.: R 61
Padilla, C.: R 66
Paeile, C.: R 89
Palazuelos, O.: R 50
Palestini, M.: R 93
Palma, L.B.: R 72
Palma, R.: R 77
Palma, V.: R 105
Palma-Rojas, C.: R 68
Palmer, E.: R 63
Palomino, A.: R 110
Pancetti, F.: R 89, R 94
Pantoja, C.: R 62
Papic, C.: R 84
Parada, E.: R 80
Parada, N.: R 116
Paredes, M.A.:R 83
Paredes, V.: R 61
Parra, C.: R 71, R 111
Parra, L.E.: R 73
Parra, M.: R 34
Parraguéz, V.:H.: R 91
Passig, C.: R 39
Pavez, M.: R 102
Paz de la Vega, Y.: R 61
Pedraza, M.: R 116
Peña, P.: R 35
Peña-Cortés, H.: R 30
Peñaloza, A.P.G.: R 81
Penna, M.: R 75
Pereda, J.: R 104
Peredo, A.A.: R 75
Peredo, S.: R 101
Pereira, I.: R 83
Pérez, H.: R 89
Pérez, I.: R 43
Pérez, L.M.: R 70
Pérez, T.: R 116
Peruzzo, B.: R 41
Peterlin, B.M.: R 20
Pey, R.: R 51
Piddo, A.M.: R 25
Piezzi, R.S.: R 39
Pihán, R.: R 71
Pimstein, M.: R 39
Piñats, W.: R94
Pincheira, G.: R 68
Pincheira, R.: R 114
Pino, A.M.: R 50
Pino, C.: R 78
Pinto, R.: R 79
Pinto-Cisternas, J.: R 117
Pinto-Hamuy, T.: R 39
Pitt, A.: R107
Pizarro, E.: R 56
Pizarro, G.: R 87
Poblete, A.: R 67
Poblete, C.: R 78
Poblete, F.: R 86
Pogson, C.: R 90
Polanco, M.: R 34
Pollard, H.B.: R 57
Pollard, M.E.: R 58
Poncelet, A.C.: R 28
Pooley, A.: R 88
Pothier, P.: R 115
Potter, C.W.: R 61
Pozo, J.: R 104
Pozo, R.: R 92
Prado,S.: R 45
Prieto, H.: R 70
Puente, J.: R 63
Pulgar, M.: R 88
Pulgar, V.: R 66

Q

Quevedo, L.: R 100
Quezada, P.: R 62
Quijada, L.: R 62
Quilhot, W.: R 85
Quiñones, V.: R 65
Quiñones-Moroni, L.: R 37
Quiñones-Sepúlveda, L.: R 53

R

Ramírez, C.: R 84
Ramírez, O.: R 82
Ramirez, V.D.: R 17
Ramos, A.: R 105
Rapoport, S.I.: R 92
Razmilic, I.: R 71
Rebolledo, R.: R 82
Rees, Ch.: R 75
Reinicke, M.I.: R 43
Rentier-Delrue, F.: R 28
Repetto, Y.: R 111
Retamales, I.: R 49
Reyes, C.E.: R 35

Reyes, E.: R 102
Reyes, J.: R 116
Reyes, J.G.: R 94
Reyes, M.A.: R 72
Reyes, P.: R 61
Reyes, R.: R 99
Reyes, S.: R 71
Reyes, T.: R 91
Ríos, D.: R 71
Ríos, J.: R 115
Ríos, M.: R 67
Riquelme I, C.A.: R 54
Riquelme, G.: R 89
Risopatron, J.: R 45
Riveros, M.: R 83
Riveros, N.: R 115
Rizzardini, G.: R 82
Robledo G.,M.: R 72
Roblero, J.S.: R 34
Rodríguez, C.: R 115
Rodríguez, J.A.: R 60
Rodríguez, S.: R 92
Rojas, E.: R 20, R21, R 58
Rojas, O.: R 55
Romero, M.: R 88
Roncagliolo, M.: R 92
Ronco, A.M.: R 49
Rosas, M.T.: R 83
Rosenmann, M.: R 74
Rotella, A.: R 69
Rougier, D.: R 82
Rubio, V.: R 45
Rudolph, M.I.: R 43
Ruiz, E.: R 78
Ruiz, G.: R 74
Ruiz, S.: R 38
Rundel, P.W. R 24:
Ryseck, R.P.: R 26

S

Saavedra, C.: R 66
Saavedra, H.: R 93
Saavedra, M.A.: R 39
Sabag, C.: R 24, R81
Sabat, P.: R 74
Sade, M.: R 43
Saéz, L.: R 93
Saéz-Vásquez, J.: R 86
Sagredo, B.: R 66
Salas, A.: R 63
Salas, K.: R 106
Salazar, G.: R 25
Salazar, J.C.: R 43
Salazar, O.: R 66, R76
Salgado, A.M.: R 45
Salvatierra, A.M.: R 48
San Martín, C.: R 84
San Martin, H.: R 96
San Martin, J.: R 84
Sánchez, C.: R 39
Sánchez, L.: R 52
Sánchez, R.: R 45
Sánchez, X.: R 115
Sandino, A.M.: R 115
Sanhueza, Y.: R 90
Sans, J.: R 86
Santibañez, J R 104.F.:
Santos, M.: R 43
Santos, M.J.: R 44
Sapag-Hagar, M.: R 25, R 42
Sarra Pistone, A.: R 103
Schackleton, G.: R 53
Schmeda Hirschmann, G.: R 71
Schoebitz, K.: R 91
Schroeder, R.: R 17, R112, R113
Schulz, C.: R 95
Schütz, H.: R 35
Schwencke, J.: R 106
Sciaraffia, C.: R 104
Seeger, M.: R 63
Seelenfreund, A.: R 75
Seguel, M.: R 90
Sein, J.: R 119
Sekkali, B.: R28
Selby, M.J.: R 30
Sepúlveda, C.: R 63, R 90
Sepúlveda, M.S.: R 46
Sepúlveda, N.: R 76
Serani, A.: R 98
Serón-Ferré, M.: R 91
Sheetz, M.P.: R 107
Siegmund, I.: R 42
Sierralta, J.: R 59
Silva, C.J.: R 73
Silva, M.: R 86
Silva, M.A.: R 107
Silva, T.G.: R 102
Silva,T.: R 112, R113
Simahara, T.F.: R 21
Simpfendörfer, R.: R 80
Skorin, C.:
Slebe, J.C.: R 108
Smith, R.: R 103
Smith-Ramirez, C.: R 24
Sobrevía, L.: R 95
Socías, M.: R 45
Socías, T.: R 45
Soler, M.: R 45
Solervicen, J.: R 84
Solis de Ovando, F.: R 108
Solis, R.: R 75
Soto, D.: R 20, R 77
Soto, G.: R 102
Soto, M.: R 104
Soto-Moyano, R.: R 28
Souto, M.: R 40
Speisky, H.: R 112
Spencer, E.: R 115
Spencer, P.: R 110
Stahl, P.D.: R 107
Stead, R.: R 56
Steiner, J.: R 107
Stuardo, M.: R 42
Suárez, B.: R 59
Subiabre, J.: R 37
Suharsonno, S.: R 29
Swennen, D.: R 28

T

Tabja, J.: R 34
Tambutti, M.: R 84
Tapia, E.: R 116
Tapia, M.T.: R 40
Tapia, V.: R 25, R 42, R 98
Tascón, S.: R44
Tellez, R.: R 109
Téllez, V.: R 51
Theoduloz, C.: R 86
Thomas, H.: R 37
Tijmes, M.: R 50
Tilzer, M.: R 76
Tobella, L.: R 64
Topasio, A.: R 61
Toro, I.: R 105
Toro, M.E.: R 118
Torrealba, F.: R 91
Torrejón, M.: R 67
Torrence, P.: R 67
Torres, C.: R 54
Torres, G.: R 60
Torres-Mura, J.C.: R 75
Traipe, L.: R 110
Traverso-Cori, A R 71.:
Troncoso, J.L.: R 49
Troncoso, S.: R 35

U

Ulloa, C.: R 64
Ulloa, N.: R 88

Uribe, E.: R 86
Uribe, P.: R 63
Urra, S.: R 61
Urrea, R.: R 112
Urzúa, A.: R 60

V

Valderrama, L.: R 77
Valdez, E.: R 48
Valdivia, M.: R 46
Valencia, G.: R 96
Valenzuela, A.: R 11
Valenzuela, C.L.: R 96
Valenzuela, J.: R 62
Valenzuela, M.A.: R 107
Valladares, L.: R 50
Vallejos, P.: R 119
Valverde, V.M.: R 78
Vantman, D.: R 103
Varela, P.: R 109
Varela, P.: R 119
Vargas, L.: R 56
Vargas, M.: R 62
Vasconcellos, A.: R 100
Vásquez, C.: R 114
Vásquez, M.: R 71
Vásquez, O.: R 114
Vásquez, R.A.: R 78
Vega, I.: R 50
Vega, M.: R 49
Vega, R.: R 101
Velarde, V.: R 34
Velásquez, P.: R 91
Velásquez,J.L.: R 39
Vélez, P.: R 59
Veloso, C.: R 79, R 120
Velozo, J.: R 70
Venegas, A.: R 118
Venegas, R.: R 97
Venegas, W.: R 117
Vera, H.: R 50
Vera, M.I.: R 65
Verdala, M.: R 80
Verdugo, M.: R 89
Vergara, C.: R 97
Vergara, F.: R 98
Vergara, M.: R 48
Vergara, R.: R 93
Vergara, T.: R 34
Vergara, U.: R 120
Vial, C.: R 51
Vial, M.V.: R 80
Vicuña, R.: R 55
Vidal, M.A.: R 64
Videla, J.: R 111
Videla, L.: R 49
Viedma, P.: R 55
Vigil, P.: R 45
Vignolo, P.: R 110
Vila, I.: R 32
Villagrán, C.: R 84
Villagrán, J.: R 45
Villalón, M.: R 36
Villanueva, J.: R 65
Villanueva, S.: R 89
Villegas, J.: R 17
Vinet, R.: R 61
Vio, C.P.: R 34
Vivaldi, E.: R 54
Viveros, J.: R 80
Vogel, A.: R 81

W

Walker, L.: R 103
Walkowiak, A.M.: R 82
Ward, P.H.: R 54
Weigert, G.: R 116
Wellmams-Dorof, A.: R 18
Werner, E.: R 17, R 113
Williams, L.T.: R 29
Willmitzer, I.: R 30
Willson, M.F.: R 18
Wolff, D.: R 97
Wyneken, U.: R 89

Y

Yáñez, A.: R 17
Yáñez, A.J.: R 113
Yates, L.R.: R 80
Yudelevich, D.L.: R 95
Yulis, C.R.: R 91
Yunes, R.: R 46

Z

Zambrano, F.: R 74
Zamora, P.: R 17, R 113
Zamorano, B.: R 35
Zanlungo, S.: R 65, R 105
Zapata, J.A.: R 72
Zapata, P.: R 90
Zárraga, A.M.: R 17, R 113
Zeballos, G.S.: R 102
Zimmermann, R.: R 56
Zuleta, C.A.: R 72
Zúñiga, G.E.: R 69
Zúñiga, J.: R 71

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

BIBLIOTECA NACIONAL
SECC. SELECCION ADQUISICION Y CONTROL
- 4 ENE. 1993
DEPOSITO LEGAL

ARANCIBIA HNOS. Y CIA. LTDA. FONOS 374613 - 7778200

UNIVERSIDAD DE CHILE
3 5601 15637 9145