SOCIEDAD DE BIOLOGÍA CELULAR DE CHILE

XXI REUNIÓN ANUAL

7 - 11 Octubre, 2007

Pucón

PATROCINAN

CENTRO DE REGULACION CELULAR Y PATOLOGIA (CRCP),

P. UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE

CENTRO DE ESTUDIOS MOLECULARES DE LA CELULA (CEMC),

UNIVERSIDAD DE CHILE

COMISION NACIONAL DE INVESTIGACION CIENTIFICA Y TECNOLOGICA (CONICYT)

FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA CELULAR

MILLENNIUM INSTITUTE FOR FUNDAMENTAL AND APPLIED BIOLOGY (MIFAB)

MILLENNIUM NUCLEUS ON IMMUNOLOGY AND IMMUNOTHERAPY (MNII)

NUCLEO MILENIO CENTRO DE NEUROCIENCIAS INTEGRADA

NUCLEO MILENIO CENTRO DE GENOMICA CELULAR (CGC)

AUSPICIAN

A. BRIL Y CIA. LTDA - ANDES IMPORT LTDA – ARQUIMED SA

BIOSCHILE IG SA – CELLYGENT SA – CIENTEC SA – FERMELO SA

GALENICA SA - GENESYS CHILE LTDA - GENEXPRESS

IVENS SA - MERK QUIMICA DE CHILE - TCL LTDA

Diseño y Producción: Menssage Producciones - www.menssage.cl

AGRADECIMIENTOS

La Sociedad de Biología Celular de Chile agradece el significativo aporte de CONICYT, para los siguientes estudiantes de Doctorado a través de su:

PROGRAMA DE APOYO A LA PARTICIPACIÓN DE ESTUDIANTES DE DOCTORADO EN REUNIONES DE SOCIEDADES CIENTIFICAS NACIONALES Y EN CONGRESOS INTERNACIONALES EN CHILE

Alumnos Beneficiados

ACEVEDO Gutiérrez Cristián
ADASME Rocha Tatiana
AGUILAR Guzmán Lorena
ALFARO Cortez Iván
AÑAZCO Oyarzún Carolina
ARANDA Jaque Evelyn
ASTROZA Constanzo Angel
AVILA Rivas Miguel
BERNAL Zamora Carolina
BERTINAT Gabrielli Romina
BITTNER Hofmann Carla
BRAVO Castillo María Loreto
BRITO Wittwer Mónica
BUCAREY Tapia José Luis
CACERES Lluch Mónica
CANCINO Rivero Luis
CARREÑO Márquez Leandro
CASTRO Lezano Tamara
CASTRO Maldonado Patricio
CEA Pisani Luis
CISTERNAS Fuentes Pedro
CONTRERAS Ferrat Ariel
COPAJA Soto Miguel
CORNEJO Araneda Isabel
CRIOLLO Céspedes Alfredo
CUEVAS Troncoso Magdalena
DE CALISTO Contreras Jaime
DE LA FUENTE Contreras Mery
DIAZ Celis César
DIAZ Elizondo Jessica
EHRENFELD Slater Ingrid
ESCOBEDO Marambio Noelia
FUENTES Pardo Luis
FUENZALIDA Morales Karen
GALLARDO Mendieta Viviana
GATICA Gutiérrez Rodrigo
GRANDY Morgan Rodrigo
GUTIERREZ Pajares Jorge
GUTIERREZ Pérez Jaime
HENRIQUEZ Barrera Soledad
HENRIQUEZ Cabezas Berta
HERRADA Hidalgo Andrés
HERRERA Molina Rodrigo
HODAR Quiroga Christian
IBAR Valenzuela María Consuelo
JUNG Gamba Juan
KRALL Opazo Paola
KURTE Gómez Mónica
LETELIER Undurraga Joaquín
LIZAMA Valenzuela Carlos
LLANOS Vidal Paola
LOAIZA Díaz Anitsi
LOBOS González Lorena
LOPEZ Bartolucci Nandy
LOPEZ Nitsche Mercedes
LOW Mansilla Marcela
MARTINEZ Acuña Fernando
MARTINEZ Cardozo Constanza
MENA Jiménez Natalia
MENA Oróstica Wilson
MILLA Brito Luis
MILLAN Giovanetti Carola
MONTENEGRO Carolina
MUÑOZ Millas Christian
NUÑEZ Aguilera Felipe
OLIVA Olave Carlos
OSORIO Rodríguez Luis
PARDO Huguet Evelyn
PARRA Ortiz Valentina
PASTOR Faúndez Patricia
PEDROZO Cibils Zully
PEREIRO González Luisa
PEREZ Munizaga Daniela
QUEZADA Brito Marisol
QUIROGA Lagos Clara
RAMIREZ Reveco Alfredo
RAMIREZ Toloza Galia
RAMIREZ González Omar
RETAMAL Villarroel Claudio
REYES Cerpa Sebastián
REYES Márquez Francisca
RIBEIRO Hager Carolina
RIQUELME Pérez Manuel
RIQUELME Sánchez Erick
ROJAS Rivera Diego
SADARANGANI Khianey Anil
SALAZAR Martínez Katterine
SANCHEZ Riquelme Helmuth
SANDOVAL Concha Pablo
SANDOVAL Pozo Mauricio
SEPULVEDA Briceño Fernando
SERRANO Gómez Antonio
SHOJI Sánchez Kenji
SPICHIGER Bruce Carlos
TORO Pavez Barbra
TORREALBA Carolina
TRONCOSO Cotal Rodrigo
UNDURRAGA Sanhueza Cristian
URBINA Alvear Daniela
URRA Gamboa María Soledad
VALCK Calderón Carolina
VALDIVIA Alvarez Leonardo
VALENZUELA Cabezas Claudio
VALENZUELA V. Manuel
VARGAS Barría Karina
VARGAS Contreras Pablo
VELASQUEZ Boulet Zahady
VIDAL Gómez René
ZUÑIGA Prado Alejandro

Indice

XXI Reunión Anual Sociedad De Biología Celular De Chile

Programa I

Programa Becas CONICYT XXVII

Conferencias 1

Simposios y Taller 5

Comunicaciones Libres 11

Paneles I 31

Paneles II 51

Paneles III 71

Indice de Autores 89

Programa

DOMINGO 7 DE OCTUBRE 2007

09:00 – 13:30 **Entrega de Programas – Salón Ranco**
Instalación de Paneles: Sesión I N° 1 al N° 65 – Salones Lonquimay y Coñaripe

11:00 – 11:45 **Presentación Técnica**
Microscopía Confocal Olympus en Tiempo Real – Aplicaciones *In Vivo*.
Juan Paulo Sagal, Microscopía Olympus, Arquimed SA.

12:00 – 13:00 **PRESENTACION CONICYT**
Presenta: Miguel Allende
FORMACION DE RECURSOS HUMANOS Y BECAS DE POSTGRADO
María Teresa Marshall, Directora Programa de Becas de CONICYT

13:00 – 15:00 **Almuerzo**

15:00 – 17:00 **Comunicaciones Libres I – Salón Araucanía**
Presidente: Miguel Allende
Secretario: Felipe Barros

MUTANTES DE EFECTO MATERNO Y "FENOCOPIAS" SUMINISTRAN IMPORTANTE INFORMACION SOBRE LA PARTICIPACION DEL CITOESQUELETO EN LA SEGREGACION OVOPLASMICA EN EL ZIGOTO DEL PEZ CEBRA (Maternal-effect mutants and "phenocopies" provide important information on the participation of the cytoskeleton in ooplasmic segregation in the zebrafish zygote) **Juan Fernández**, Rodrigo Alvarez y Ricardo Fuentes. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. jfernand@abello.dic.uchile.cl

PÉPTIDOS MEMBRANA PERMEABLE REVELAN NUEVAS PROPIEDADES EN LA RUTA EXOCITICA BASOLATERAL (Membrane-permeant peptides reveal novel properties in the basolateral exocytic route) **Carolina Torrealba,** Jorge Cancino y Alfonso González. Unidad de Estructura y Función Celular, Facultad Medicina. Centro FONDAP Regulación Celular y Patología "Joaquín Luco" (CRCP). Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile y MIFAB. ctorrear@uc.cl

PREVALENCIA DE MONÓMEROS DE LAS SUBUNIDADES DEL RECEPTOR $GABA_B$ EN DENDRITAS Y AXONES DE NEURONAS HIPOCAMPALES (Prevalence of monomeric $GABA_B$ receptor subunits in dendrites and axons of hippocampal neurons) **Omar A. Ramírez**[‡], René L. Vidal[‡], Judith A. Tello[‡], Steffen Härtel[¶] y Andrés Couve[‡]. [‡]Programa de Fisiología y Biofísica y [¶]Programa de Anatomía y Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile. oramirez@med.uchile.cl

LAS CÉLULAS DE SCHWANN REQUIEREN SEPTINA 7 PARA ORGANIZAR SU CITOESQUELETO DE ACTINA CON EL FIN DE ENVOLVER Y MIELINIZAR AXONES (Schwann cells require Septin 7 for actin citoskeleton dependent axonal ensheathment and mielination) **Alejandro D. Roth**[1], Anna Ivanova[2], David R. Colman[2]. [1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Santiago, Chile. [2]Montreal Neurological Institute, McGill University, Montreal, Canadá. alejroth@uchile.cl

EFECTOS INHIBITORIOS DE AGREGADOS DEL PÉPTIDO $A\beta_{1\text{-}40}$ SOBRE UN MODELO DE PLASTICIDAD SINÁPTICA ACTIVIDAD-DEPENDIENTE EN NEURONAS DE HIPOCAMPO (Inhibitory effects of $A\beta_{1\text{-}40}$ aggregates on an activity-dependent plasticity model in hippocampal neurons) **Sepúlveda Fernando J.,** Parodi J, Cuevas M, Opazo C. y Aguayo LG. Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción, Chile.

CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS (MSC) CONTRIBUYEN A LA REGENERACIÓN PANCREÁTICA Y RENAL EN MODELO ANIMAL DE DIABETES TIPO 1 (MSC contribute to pancreas and kidney regeneration in Type 1 Diabetic mice) **Fernando Ezquer**[1]**,** Marcelo Ezquer[1], Daniel Carpio[2], Alejandro Yañez[2], Paulette Conget[1]. [1]Instituto de Ciencias, Facultad de Medicina Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo. [2]Instituto de Bioquímica, Universidad Austral. eezquer@udd.cl

ENZIMATIC REGULATION OF THE AP3 SORTING MACHINERY (Regulación enzimática de la maquinaria de destinación AP3) **Salazar, Gloria**., Craige, B and Faundez, V. Dept. Cell Biology, Emory University. gsalazar@cellbio.emory.edu (Patrocinio: M. Bravo)

FIBRINA MODIFICA EL FENOTIPO SENESCENTE DE FIBROBLASTOS DE PIEL HUMANA (Fibrin modified the senescent phenotype of human dermal fibroblasts) **Cristian Acevedo Gutiérrez,** Manuel Young Anze y Juan Reyes Martínez. Programa Doctorado Biotecnología PUCV-UTFSM, Centro Biotecnología UTFSM e Instituto de Química PUCV. cristian.acevedo@usm.cl, jreyes@ucv.cl

17:00 – 18:00 **Café – Presentación Empresas – Visita Paneles: Salones Lonquimay y Coñaripe**

18:00 – 19:30 **Comunicaciones Libres II – Salón Araucanía**
Presidente: M. Julieta González
Secretario: María de los Angeles García

EL ESTABLECIMIENTO DEL EJE IZQUIERDA-DERECHA DEPENDE DE UN PROCESO DE EPITELIALIZACIÓN COORDINADO POR LA VÍA DE POLARIDAD PLANA WNT/PCP (Wnt/planar cell polarity dependent tissue epithelialization is required for left-right patterning) Oteiza P., Köppen M.[1], Krieg M.[2], Preibisch S.[1], Müller M.[2], Heisenberg C.-P.[1], **Concha Miguel L.** Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo. ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [1]MPI-CBG, Dresden. [2]Biotec, Dresden. mconcha@med.uchile.cl, pablo@neuro.med.uchile.cl

PPARγ SE MUEVE EN FORMA RETRÓGRADA EN EL NERVIO CIÁTICO DE RATA Y SE ASOCIA A ENDOSOMAS EN CÉLULAS NEURONALES PC12 (PPARγ presents retrograde movement in the rat sciatic nerve and is associated to endosomes in PC12 neuronal cells) **Lezana, Juan Pablo**, Pacheco, A., Allende E., Bronfman, F.C. y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) y Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Center for Genomics and Bioinformatics, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

RECEPTORES CANABINOIDE (CB1) Y DE DOPAMINA (D2R) EN CÉLULAS GERMINALES MASCULINAS: UN MODELO DE INTERACCIÓN FUNCIONAL Y SEÑALIZACIÓN DEPENDIENTE DE cAMP (Cannabinoid (CB1) and dopamine (D2R) receptors in male germ cells: a model for a functional interaction and cAMP-dependent signalling) **Alfredo Ramírez**[1✉]; Maite Castro[1]; Laura Ramió[2]; Montserrat Rivera[2]; Mauricio Torres; Teresa Rigau[2]; Joan-Enric Rodríguez-Gil[2]; Ilona Concha[1] Instituto de Bioquímica Universidad Austral de Chile[1]; Unitat Reproducció Animal, Universitat Autónoma de Barcelona, España[2]. alfredoramirez@uach.cl

TESTOSTERONA ACTIVA LA VÍA mTOR/S6K1 A TRAVÉS DE PI3K/Akt Y MEK/ERK EN CARDIOMIOCITOS (Testosterone activates mTOR/S6K1 pathway through PI3K/Akt and MEK/ERK in cardiomyocytes) **Francisco Altamirano**, César Oyarce, Sergio Lavandero y Manuel Estrada. FONDAP CEMC, Facultades de Medicina y Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. iestrada@med.uchile.cl

PAPEL DE LAS ADAM 1, 9, 10 Y 17 EN LA APOPTOSIS DURANTE LA ESPERMATOGENESIS DE LA RATA (Role of ADAMs 1, 9, 10 y 17 in rat male germ cell apoptosis**) Carlos Lizama V[1]**, Marcelo Antonelli[2] y Ricardo D. Moreno[1]. Pontificia Universidad Católica de Chile[1] y Universidad de Chile[2]. rmoreno@bio.puc.cl

ACTIVACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN DE COX-2 VÍA WNT/β-CATENINA EN CÉLULAS DE CÁNCER GÁSTRICO (Transcriptional activation of COX-2 gene by Wnt/β-catenina pathway in gastric cancer cells) **Felipe Núñez[1],** Soraya Bravo[2], Fernando Cruzat[2], Martín Montecino[2] y Giancarlo De Ferrari[1]. [1]Lab. de Genética y Transducción de Señales y de [2]Biología Celular y Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción. gdeferrari@udec.cl

19:30 – 20:30 **CONFERENCIA NUCLEOS MILENIO: CENTRO DE NEUROCIENCIAS INTEGRADA Y CENTRO DE GENOMICA CELULAR.**
Presenta: Manuel Kukuljan
SELF-ASSEMBLY OF THE BRAIN: WATCHING MOLECULES DRIVE A NEURON GO CRAZY, AND FORCING A SYNAPSE TO MEMORIZE AN INCIDENCE.
Akira Chiba, Department of Biology, University of Miami, Coral Gables, Florida, USA

20:30 **Cena**

22:00 – 23:30 **Presentación de Paneles - Sesión I (N° 1 al N° 65)**
Salones Lonquimay y Coñaripe
Coordinadores: Teresa Caprile – Pedro Zamorano – Eliseo O. Campos

(1) IDENTIFICACIÓN DEL AMINOÁCIDO (TREONINA 235) IMPLICADO EN LA INHIBICIÓN DEL RECEPTOR NMDA POR EL DOMINIO PDZ2 DE LA PROTEÍNA ANDAMIO PSD-95 (Identification of a single amino-acid (Threonine235) involved in the inhibition of NMDA receptors by the PDZ2 domain of the scaffolding protein PSD-95) Dennisse González[1], **Mauricio Sandoval[1,3]**, Estíbaliz Ampuero[1], Juan José Marengo[2], Ursula Wyneken[1]. [1]Laboratorio Neurociencias, Universidad de los Andes; [2]ICBM, Universidad de Chile; [3]Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. neuroc@uandes.cl

(2) DOMINIOS DE TRANSMEMBRANA Y SU IMPORTANCIA EN LOS PROCESOS DE DIMERIZACIÓN DE CONEXINAS (Transmembrane domains and their importance in the process of connexins dimerization) **Rodrigo Acuña[1]** y Agustín D. Martínez[1]. [1]Centro de Neurociencias Valparaíso, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. rodrigo.acuna.bq@gmail.com (Patrocinio: J. C. Sáez)

(3) Cu^{2+} INDUCE LA UBIQUITINACION SIN ALTERAR LA EXPRESION DE UBIQUITINA (Cu^{2+} induces ubiquitinacion without altering ubiquitin expression) **Avila M.[†Ψ],** Aylwin C.[†], Reyes M.[†], Peters C.[†], Lim C.M.[‡], James S.[‡], Guzmán L.[§], Moraga G.[§], Aguayo. L.G.[§], De Ferrari G.V.[Ψ], Bush A.I.[‡] y Opazo C[†]. [†]Laboratorio de Neurobiometales, [§]Departamento de Fisiología, [Ψ]Departamento de Bioquímca y Biología Molecular, Universidad de Concepción, Chile; [‡]Oxidation Disorders Laboratory, Mental Health Research Institute of Victoria and Department of Pathology, The University of Melbourne, Australia. carlosopazo@udec.cl

(4) EFECTO DE LA SOBREEXPRESIÓN DE EZRINA EN ACINOS DE GLÁNDULAS SALIVALES (Effect of ezrin overexpression in salivary gland acini) Pérez P[1], **Brito M[1]**, Aguilera S[2], Alliende C[1], Ewert P[1], Castro I[1], Molina C[3], González S[1], Leyton C[1], Goldsmith C[4], Baum B[4] y González MJ[1].[1]ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, [2]Clínica INDISA, [3]Universidad Mayor, [4]NIDCR, NIH, USA mbrito@med.uchile.cl

(5) CARACTERIZACIÓN DE CONCATÉMEROS TRIMÉRICOS DEL RECEPTOR $P2X_4$ WT, CON MUTACIÓN H140A EN UNO Y DOS MONÓMEROS (Characterization of trimer concatemers of the purinergic P2X4 receptor WT, with the H140A mutation in one and two monomers) **P. Bull,** D. Sanhueza, C. Coddou, J. P. Huidobro-Toro. Laboratorio de Bioquímica y Laboratorio de Nucleótidos, Centro de Regulación Celular y Patología J.V. Luco, Instituto MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

(6) SIMVASTATINA INDUCE APOPTOSIS EN FIBROBLASTOS Y MIOFIBROBLASTOS CARDIACOS (Apoptosis induced by simvastatin in cardiac fibroblast and myofibroblast) **Miguel Copaja-Soto,** Daniel Venegas, Sergio Lavandero, Guillermo Diaz-Araya. Centro FONDAP CEMC. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. mcopaja@gmail.com

(7) MECANISMO DE POTENCIACIÓN DEL EFECTO DE ALDOSTERONA POR VASOPRESINA EN CARDIOMIOCITOS DE RATAS (Effect of aldosterone is increased by vasopressin in cardiomyocytes of rats) **Carrasco L.**, Michea, L. Laboratorio Fisiología Integrativa, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. lcarrascoa@med.uchile.cl

(8) NGF INDUCE LA FOSFORILACIÓN DE PPARγ Y MODULA SU ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL EN CÉLULAS PC12 (PPARγ phosphorylation is induced by NGF and modulates its transcriptional activity in PC12 cells) **Karen Fuenzalida** y Miguel Bronfman. Centro de Regulación Celular y Patología, Instituto Milenio para Biología Fundamental y Aplicada. Departamento de Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile. kfuenzal@gmail.com

(9) TCF/LEF Y Runx2 AUMENTAN LA ACTIVIDAD DEL PROMOTOR DEL GEN Ric-8B HUMANO EN CÉLULAS OSTEOBLASTICAS (TCF/LEF and Runx2 up-regulate the human Ric-8B gene promoter activity in osteoblastic cells) **Rodrigo Grandy**, Juan Olate y Martin Montecino. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. rgrandy@udec.cl

(10) LEPTOCARPINA MODULA LA ACTIVIDAD DE MRP1 EN CÉLULAS DE OLIGODENDROGLIOMAS (Leptocarpin modulates the MRP1 activity in oligodendroglioma cells) **González-Oyarzún M.,** Quezada C., Mena C., Garrido W., Nualart F., Martinez R., Yañez A., Slebe J.C. & Cárcamo J.G. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. gcarcamo@uach.cl

(11) LOCALIZACIÓN DE FACTOR TISULAR (FT) EN DOMINIOS RICOS EN COLESTEROL (LIPID RAFTS, LR): MECANISMO DE ENCRIPTACIÓN DE ACTIVIDAD PROCOAGULANTE EN PLAQUETAS HUMANAS (Tissue Factor (TF) localization in cholesterol-rich domains (Lipid Rafts, LR): Mechanism of procoagulant activity encryption in human platelets) **Ibarra P.,** Panes O., Matus V., Sáez CG, Pereira J., Mezzano D. Dpto. Hematología-Oncología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. pcibarra@uc.cl (Patrocinio: E. Brandan)

(12) INHIBIDORES DE CALPAÍNA 2 SUPRIMEN LA APOPTOSIS INDUCIDA POR CALOR EN ESPERMATOCITOS DE RATA (Suppression of Heat-Induced Apoptosis in Rat Spermatocytes by Calpain 2 Inhibitors) **Carlos F. Lagos[1,2*],** Carlos Lizama[3], Angel Gonzalez[2], Calixto Dominguez[2], Rina Ortiz[3], Tomás Pérez-Acle[2], Patricio Huenchuñir[1] y Ricardo D. Moreno[3]. [1]Laboratorio de Química Médica, Departamento de Farmacia, Facultad de Química. [2]Centro de Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas. [3]Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. carlos@cgb.cl

(13) EFECTOS ANTIANGIOGÉNICOS NO ESPECIE-ESPECÍFICOS DE CALRETICULINA DE *Trypanosoma cruzi* (*Trypanosoma cruzi* non species-specific antiangiogenic effects) **Nandy López**, Juana Orellana, Carolina Valck, Galia Ramírez, Carolina Ribeiro, Ismael Maldonado, Arturo Ferreira. LIAM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. nandyl@yahoo.es

(14) EVOLUTION OF THE INTERACTION BETWEEN RUNX2 AND VDR, TWO FACTORS INVOLVED IN OSTEOBLASTIC DIFFERENTIATION (Evolución de la interacción entre Runx2 y VDR, dos factores involucrados en la diferenciación osteoblástica) **Sylvain Marcellini(1)**, Carola Bruna[(1)], Juan-Pablo Henriquez[(1)], Ariel E. Reyes[(2)], Daniela Pérez-Munizaga[(2)], Ximena Koch[(1)], and Martin Montecino[(1)]. (1)Universidad de Concepción. (2)Universidad Diego Portales. smarcellini@udec.cl

(15) ROL DE LA COMUNICACIÓN INTERCELULAR EN LA SENSIBILIDAD A TRAIL EN TUMORES DE ENDOMETRIO Y OVARIO (Role of the intercellular communication in TRAIL sensitivity in endometrium and ovarian tumors) **Oliva B.,** Sáez C, Owen G., Cuello M. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. barbara.oliva@gmail.com

(16) CROMOGRANINA B REGULA LA SECRECIÓN DE BNP EN CARDIOMIOCITOS (Chromogranin B regulates the BNP secretion in cardiomyocytes) **Javiera Osorio**, Francisco Altamirano y Manuel Estrada. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. iestrada@med.uchile.cl

(17) REGULACIÓN DE LA DINÁMICA MITOCONDRIAL POR CERAMIDA EN LA MUERTE DEL CARDIOMIOCITO (Regulation of mitochondrial dynamics by ceramide in the cardiomyocyte death) **Valentina Parra**, Verónica Eisner, Alfredo Criollo, Francisco Moraga, Mario Chiong, Cecilia Hidalgo, Enrique Jaimovich, Sergio Lavandero. Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile.

(18) PROTEÍNA Herp EN LA MUERTE INDUCIDA POR ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO (Herp in endoplasmic reticulum stress-induced cell death) **Clara Quiroga,** Claudio Hetz, Sergio Lavandero. Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile.

(19) TESTOSTERONA INDUCE HIPERTROFIA CARDIACA A TRAVÉS DE MODIFICACIONES DEL Ca^{2+} INTRACELULAR (Cardiac hypertrophy induced by testosterone involves intracellular Ca^{2+} changes) **Jessica Rivera**, Francisco Altamirano, Cesar Oyarce y Manuel Estrada. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. iestrada@med.uchile.cl

(20) MECANISMOS MEDIANTE EL CUAL 2-METOXIESTRADIOL INDUCE APOPTOSIS EN CÉLULAS CANCERÍGENAS Y NO EN CÉLULAS NORMALES DEL TRACTO REPRODUCTIVO FEMENINO (Mechanism by which 2-methoxyestradiol induces apoptosis in cancerous but not healthy cells of the female reproductive tract) **Sadarangani A,** Kato S, Cuello M y Owen G.I. Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.

(21) PARTICIPACIÓN DE MeCP2 EN LA REGULACIÓN DE LA CAPACIDAD REPLICATIVA (Role of MeCP2 in the regulation of replicative capacity) **Alexandra Saona**[a,b], Mauricio Sáez[a,b], Matías Alvarez[a] Bradford Kerr[a] y Juan Young[a]. (a) Centro de Estudios Científicos, (b) Universidad Austral de Chile.

(22) E-CADHERIN IS REQUIRED FOR CAVEOLIN-1-MEDIATED DOWN-REGULATION OF THE INHIBITOR OF APOPTOSIS PROTEIN SURVIVIN VIA REDUCED β-CATENIN-Tcf/Lef-DEPENDENT TRANSCRIPTION (Caveolina-1 requiere E-caderina para regular negativamente a survivina via reducción de la transcripción dependiente de β-catenina-Tcf/Lef) Vicente Torres, **Julio Tapia**, Diego Rodriguez, Alvaro Lladser, Cristian Arredondo, Lisette Leyton and Andrew Quest FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. aquest@med.uchile.cl

(23) IGF-1 INHIBE LA AUTOFAGIA DEL CARDIOMIOCITO INDUCIDA POR PRIVACIÓN DE NUTRIENTES (IGF-1 inhibits cardiomyocyte autophagy stimulated by nutrient deprivation) **Rodrigo Troncoso**, Sergio Lavandero. Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula, Facultades Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Medicina, Universidad de Chile. troncoso.r@gmail.com

(24) *Helicobacter pylori* DOWNREGULATED SURVIVIN EXPRESSION AND PROMOTED APOPTOSIS IN GASTRIC CANCER CELLS (*Helicobacter pylori* disminuye la expresión de Survivina y promueve apoptosis en células de cáncer gástrico) **Manuel Valenzuela**, Guillermo Perez-Perez**#,** Lisette Leyton*, Héctor Toledo H§, and Andrew F G Quest*. *FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC) and §Laboratory of Molecular Microbiology, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. #Department of Medicine, New York University School of Medicine, New York, New York, USA. aquest@med.uchile.cl

(25) CARACTERIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE RUNX2 Y CBFB A TRAVÉS DEL CICLO CELULAR EN UNA LÍNEA CELULAR ÓSEA OBTENIDA DE CRÁNEO DE EMBRIÓN DE RATA (Characterization of RUNX2 and CBFB expression throught cell cycle in a rat embryo cranial bone derived - cell line) **Karina Villegas[1],** Inga San Martín[1], Amjad Javed[2] Jane Lian[3], Janet Stein[3], Gary Stein[3], Andre van Wijnen[3], Mario Galindo[1]. [1]Programa de Biología Celular y Molecular ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [2]Institute of Oral Health Research, School of Dentistry, University of Alabama. [3]Department of Cell Biology and Cancer Center, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, USA. karinavillegasl@gmail.com

(26) BDNF INCREMENTA LA EXPRESIÓN DE RyR Y DE SU RECEPTOR TrkB EN NEURONAS DE HIPOCAMPO (BDNF increases the expression of RyR and TrkB in hippocampal neurons) §**Adasme, T.**, ‡Olivero, P., §Haeger, P., §Leal, N., §Carrasco, MA. & §Cecilia Hidalgo. ‡ICVR, Universidad de Valparaíso, §CEMC, ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. tadasme@ciq.uchile.cl

(27) EFECTO DIFERENCIAL DE ALDOSTERONA SOBRE LA GENERACIÓN DE ROS EN CÉLULAS MONONUCLEARES Y CARDIOMIOCITO (Differential effect aldosterone in ROS generation in mononuclear cells and cardiac myocytes) **Jessica Díaz-Elizondo,** Magdalena González, Claudio Olea-Azar, Luis Michea, Sergio Lavandero. Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula. Facultades de Medicina y Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

(28) CARBONILACIÓN DEL RECEPTOR DE RYANODINA (RyR2) DURANTE ISQUEMIA/REPERFUSIÓN EN EL CARDIOMIOCITO (Carbonylation of ryanodine receptor (RyR2) during ischemia/reperfusion in cardiomyocyte) **Zully Pedrozo[1],** Gina Sánchez[1], Sergio Lavandero[1,2], Paulina Donoso[1]. [1]Centro FONDAP CEMC, Facultad de Medicina y [2]Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

(29) PROGESTERONA AUMENTA LOS NIVELES Y LA ACTIVIDAD DEL ONCOGEN PAR-1 EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA (Progesterone increases the levels and the activity of the oncogene PAR-1 in breast cancer cells) **Aranda-Jaque E**. y Owen, G.I. Unidad de Reproducción y desarrollo, Pontificia Universidad Católica de Chile. ejaranda@puc.cl

(30) LA CONCENTRACIÓN EXTRACELULAR DE VITAMINA C REGULA LA POLARIZACIÓN APICAL DE SVCT1 EN EL TÚBULO PROXIMAL (Extracellular concentration of vitamin C regulates SVCT1 apical polarization in proximal cells) **Tamara Castro**, Hernán Montecinos, Juan Pablo Henríquez, Francisco Nualart. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción.

(31) EVENTOS DE TRÁFICO VESICULAR INVOLUCRADOS EN LA EXPRESIÓN DEL CANAL DE CLORURO CLC-2 EN LA SUPERFICIE CELULAR (Vesicular traffic events involved in the cell surface expression of the ClC-2 chloride channel) **Isabel Cornejo**[1,2] Francisco V. Sepúlveda[1] y Pablo Cid[1]. [1]Centro de Estudios Científicos (CECS) y [2]Universidad Austral de Chile. pcid@cecs.cl

(32) IDENTIFICACIÓN DEL RECEPTOR DE INSULINA EN AISLADOS DE TUBULOS CONTORNEADOS PROXIMALES DESDE RIÑÓN DE RATAS NORMALES Y DIABETICAS (Expression of insulin receptor in isolated proximal tubules from diabetic and normal rat kidney) **Rodrigo Gatica.,** Juan Carlos Slebe, Mónica Salas y Alejandro Yañez. Instituto de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. Programa Doctorado en Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. rodrigogatica@uach.cl

(33) LA INHIBICIÓN *IN VIVO* DE GLUCOQUINASA CEREBRAL AFECTA EL COMPORTAMIENTO DE SACIEDAD (*In vivo* glucokinase inhibition affects the saciety behaviour) **Fernando Martínez**, Carola Millán, Christian Cortés, Francisco Nualart, María de los Angeles García. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción. femartin@udec.cl

(34) PRESENCIA DE TRANSPORTADORES DE ÁCIDO ASCÓRBICO, SVCTs, DURANTE EL DESARROLLO DE LA LÍNEA GERMINAL MASCULINA (Presence of ascorbic acid transporters, SVCTs, in male germ line development) **Eduardo Pulgar**, Héctor Mancilla, Alfredo Ramírez, Constanza Angulo, Romina Bertinat, Alejandro Yañez, Juan Carlos Slebe, Maite Castro e Ilona I. Concha, Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. conchagrabinger@uach.cl

(35) A SURVIVIN DNA VACCINE COMBINED WITH TOLL-LIKE RECEPTOR AGONISTS REDUCED MELANOMA GROWTH IN C57BL/6 MICE (Una vacuna de DNA combinada con ligandos para receptores tipo toll que reduce el crecimiento de melanomas en ratones C57BL/6) **Lorena Aguilar**[1,2], Álvaro Lladser[1], Lorena Lobos[1], Arturo Ferreira[2], Andrew Quest[1]. [1]FONDAP, Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC) and [2]Laboratory of Immunology of Microbial Aggression, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. aquest@med.uchile.cl

(36) DERIVADOS APORFÍNICOS DE BOLDINA BLOQUEAN LOS HEMICANALES, PERO NO LOS CANALES DE UNIONES EN HENDIDURAS EN CÉLULAS HeLa TRANSFECTADAS CON CONEXINA 26, 32 Ó 43 (Boldine aporfinic derivatives block hemichannles but not gap junction channels in HeLa cells transfected with connexin26, 32 or 43) [a]**Marlene N. Arismendi**, [b,d]Helmuth A. Sánchez, [b,d]Kenji F. Shoji, [c]María P. Ocaranza, [a]Bruce K. Cassels, [b,d]Juan C. Sáez. [a]Departamento de Química, Universidad de Chile. [b]Departamento de Ciencias Fisiológicas y [c]Departamento de Cardiología, Pontificia Universidad Católica y [d]Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia. arismendi.macuer@gmail.com

(37) ALDOSTERONA POTENCIA LA INMUNOGENICIDAD DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS, AUMENTANDO SU CAPACIDAD DE ACTIVAR CÉLULAS T (Aldosterone enhances dendritic cell immunogenicity, increasing their capacity to prime T cells) **Francisco Contreras[1],** Andrés Herrada[1], Natacha Marini[1], Flavio Carrión[3], Fernando Figueroa[3], Luis Michea[4] y Alexis M. Kalergis[1,2]. [1]Núcleo Milenio en Inmmunología e Inmunoterapia. Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile. [3]Facultad de Medicina, Universidad de los Andes. [4]Facultad de Medicina, Universidad de Chile. akalergis@bio.puc.cl

(38) PAPEL DE *ccr7* EN LA HEMATOPOIESIS DEL PEZ CEBRA (Role of *ccr7* in the zebrafish hematopoiesis) **Gallardo V.** [(1)], Villablanca E.J. [(2)] y Allende ML. [(1)]. [(1)]CGC, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [(2)]Instituto Científico San Rafaelle, Milán, Italia.

(39) CÉLULAS DENDRÍTICAS UTILIZADAS EN INMUNOTERAPIA CONTRA EL MELANOMA MALIGNO ACTIVAN CÉLULAS NATURAL KILLER (Dendritic cells used in immunotherapy against malignant melanoma are able to activate NK cells) **Mónica Kurte[1],** Claudia Durán[1], Paulina Toledo[1], Cristián Pereda[1], Benedict Chambers[2], Mercedes López[1] y Flavio Salazar-Onfray[1]. [(1)]Programa de Inmunología, ICBM, Universidad de Chile, Santiago, Chile. [(2)]Departamento de Medicina, Instituto Karolinska, Estocolmo, Suecia. mkurte@med.uchile.cl

(40) EFECTO DIABETOGÉNICO DE LA DROGA INMUNOSUPRESORA FK506 POR BLOQUEO DE LA SECRECIÓN DE INSULINA EN CÉLULAS PANCREÁTICAS (Diabetogenic effect of immunosuppresive drug FK506 due to the blockage of insulin secretion in pancreatic cells) **Rauch, M.C.,** Quezada, C., Salas, M., Cárcamo, J.G., Yánez, A.J., Slebe, J.C. y Claude, A. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. crauch@uach.cl (Patrocinio: A. Yánez)

(41) *Neisseria gonorrhoeae* INDUCE UN CAMBIO FENOTÍPICO EN CÉLULAS EPITELIALES POLARIZADAS (Phenotypic changes in epithelial cells by *Neisseria gonorrhoeae*) **Carolina Rodríguez-Tirado,** Daniel Valdés, Mónica Imarai, Kevin Maisey. Laboratorio de Inmunología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

(42) IL-10 DISMINUYE LA EXPRESIÓN DE LIGANDOS NKG2D EN LA SUPERFICIE DE CÉLULAS DE MELANOMA (Il-10 downregulates melanoma cell surface expression of NKG2D ligands) **Serrano AE,** Gatica-Andrades M, Menares-Castillo E., Figueroa-Amenábar C, Zúñiga R, López M., Salazar-Onfray. F Aguillón. JC, y Molina MC. Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. mcmolina10@hotmail.com (Patrocinio: J. Sierralta)

(43) *Trypanosoma cruzi* INHIBE EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO (*Trypanosoma cruzi* calreticulin inhibits the classical complement pathway) **C. Valck,** V. Ferreira, M. Rodríguez, G. Ramírez, N. López, C. Ribeiro, W. Schwaeble, A. Ferreira. Facultad de Medicina, ICBM, Universidad de Chile. cevalck@gmail.com

(44) LA EXPRESIÓN DEL GEN CaMKIV ES REGULADA POR LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN Wnt/β-CATENINA EN NEURONAS HIPOCAMPALES (Regulation of CaMKIV gene expression by the Wnt/β-catenin signaling pathway in hippocampal neurons) **Arrázola MS.**, Varela-Nallar L., Colombres M. e Inestrosa NC. Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

(45) DESARROLLO DE INTERFERENCIA POR RNA PARA EL ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE MICRO RNAs EN EL DESARROLLO Y MANTENCIÓN DE LA DIFERENCIACIÓN NEURONAL. **Federico Andrés Berndt**, Lorena Santa María, René Vidal, Andrés Couve, Manuel Kukuljan. Facultad de Medicina, Universidad de Chile**.** kukuljan@neuro.med.uchile.cl

(46) LA INTERACCIÓN ENTRE MAP1B Y TTL REGULA LA TIROSINACIÓN DE LA ALPHA-TUBULINA EN NEURONAS (MAP1B interaction with TTL regulates the tyrosination of alpha-tubuline in neurons) **Erick Contreras-Vallejos[1]**, Sebastián Rojas[1], Elias Utreras[1], Eva-Maria Jiménez-Mateos[2], Ricardo B. Maccioni[3], Jesús Avila[2] y Christian González-Billault[1]**.** (1)Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (2)Centro de Biologia Molecular Severo Ochoa, Madrid, España. (3)Laboratorio de Biologia Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. chrgonza@uchile.cl - erickcontreras@gmail.com

(47) LA EXPRESIÓN DE Runx1 ES MODULADA POR VÍA WNT EN CÉLULAS NEURONALES (Runx1 expression is modulated by Wnt pathway in neuronal cells) **Mery De La Fuente**[1], Ariana Bertin[1], Paulina Bahamonde[1], Maryory Montero[1], Felipe Núñez[1], Carlos Opazo[2], Giancarlo De Ferrari[1]. [1]Depto. Bioquímica y Biología Molecular, [2]Depto. Fisiología. Universidad de Concepción, Chile. gdeferrari@udec.cl

(48) EL RECEPTOR PARA NEUROTROFINAS, TrkB, PARTICIPA EN RESPUESTAS CELULARES DIFERENCIALES DE NEURONAS HIPOCAMPALES Y CORTICALES FRENTE A ESTIMULACIÓN CRÓNICA (The neurotrophin receptor TrkB participates in differential cellular responses in hippocampal and cortical neurons following chronic stimulation) **Rodrigo González[1],** Andrés González[1], Soledad Sandoval[1], Marcelo Sepúlveda[1], Luis Michea[2], Ursula Wyneken[1]. [1]Laboratorio de Neurociencias, Universidad de los Andes, [2]ICBM, Universidad de Chile. neuroc@uandes.cl

(49) HID-1, UN NUEVO REGULADOR EN NEUROSECRECIÓN (HID-1, a novel regulator of neurosecretory signaling) **Rosana Mesa**, Shuo Luo, and Michael L. Nonet. Department of Anatomy and Neurobiology, Washington University School of Medicine Saint Louis, MO. USA. (Patrocinio: N.C. Inestrosa)

(50) INHIBICIÓN AGUDA DEL TRANSPORTE NEURONAL DE LA GLUCOSA: MECANISMOS PRE-SINÁPTICOS Y POST-SINÁPTICOS (Acute inhibition of neuronal glucose transport: pre- and post-synaptic mechanisms) **Carolina Oyarzún[1,2]**, Hans Moldenhauer[1,2], Omar H. Porras[1], Timothy Ryan[3], L. Felipe Barros[1]. [1]Centro de Estudios Científicos, Valdivia, [2]Universidad Austral de Chile, Valdivia, y [3]Cornell University, Nueva Cork, USA. coyarzun@cecs.cl

(51) EL LIGANDO WNT-7a INDUCE CAMBIOS TRANSCRIPCIONALES EN NEURONAS DE HIPOCAMPO DE RATA TRATADAS CON EL PEPTIDO Aβ. (Wnt-7a ligand induces transcriptional changes in rat hippocampal neurons treated with Aβ peptide). **Leonardo Pávez[1]**, Marcela Colombres[2], Juan Godoy[2], Verónica Cambiazo[1], Eliseo O. Campos[2], Mauricio González[1] y Nibaldo C. Inestrosa[2]. [1]Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile y [2]Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Instituto Milenio MIFAB y Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

(52) ACTIVACIÓN DE PPARγ INDUCE UN AUMENTO EN LA SOBREVIDA DE NEURONAS DEL GANGLIO DE LA RAÍZ DORSAL DE RATA ADULTA (PPARγ activation induces increased in survival of adult rat dorsal root ganglia neurons) **Vega, D.** y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) e Instituto Milenio MIFAB. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. mbronfman@bio.puc.cl

(53) PAPEL DE REST/NRSF EN EL DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBRAL. José Cánovas, Patricio Fuentes, Manuel Kukuljan. Facultad de Medicina, Universidad de Chile kukuljan@neuro.med.uchile.cl

(54) PLEGAMIENTO *IN VIVO* DE α-TUBULINA RECOMBINANTE: EFECTO DE LA MUTACIÓN E254Q EN EL DESARROLLO TEMPRANO DEL PEZ CEBRA (*In vivo* folding of a recombinant α-tubulin: effect of the site-directed mutation E254Q on the early Zebrafish development) **César Díaz[1]**, Cristian Undurraga[2], Rocío León[1], Marcela Muñoz[1], Miguel Allende[2], Octavio Monasterio[1]. [1]BEM, [2]CGC, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. armisael_hsg@hotmail.com

(55) PAPEL DE Hif-1α EN LA PROLIFERACIÓN CELULAR DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PEZ CEBRA (Role of Hif-1α in cellular proliferation during embryo development in zebrafish) **Carlos S. Henríquez[2],** Elías H. Barriga[3] y Ariel E. Reyes[1]. [1]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. [2]Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. [3]Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. ariel.reyes@udp.cl

(56) CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y RELACIONES FILOGENÉTICAS DE LA PROTEÍNA PATCHED-RELATED DE *D. melanogaster* (Molecular characterization and phylogenetic relationships of Patched-related protein from *D. melanogaster*) **Freddy Ibáñez,** Carmen Bolatto, Patricia Hanna, Alejandro Zúñiga, Verónica Cambiazo. Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica INTA-Universidad de Chile & Center for Genomics of the Cell (CGC).

(57) EFFECT OF THE ENVIRONMENT IN THE DEVELOPMENT OF THE OLFACTORY SENSORY NEURONS IN THE ZEBRAFISH (Efecto del medio ambiente en el desarrollo de las neuronas sensoriales olfatorias de pez cebra) **Wilson Mena,** Juanita Astudillo, Francisco Araya, and Kathleen Whitlock. Centro de Neurociencia de Valparaíso (CNV), Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.

(58) FUNCIÓN DE DLGS97/SAP97 EN EL CEREBRO DE *Drosophila* (DLGS97/SAP97 function in the *Drosophila* brain) **Carlos Oliva,** Valeria Albornoz y Jimena Sierralta. ICBM, F. De Medicina, Universidad de Chile y CENI. coliva@med.uchile.cl

(59) Sox 2 CONTROLA EL ESTADO DE DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS DEL PRIMORDIO DE LA LÍNEA LATERAL DE PEZ CEBRA (Sox 2 controls the state of differentiation of zebrafish lateral line primordium) **Pablo Sandoval**, Cristian Undurraga, Pedro Hernández y Miguel Allende, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, CGC.

(60) CNBP ES ESENCIAL PARA EL DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS CRANEOFACIALES EN EL PEZ CEBRA (CNBP is required for craniofacial skeleton development in zebrafish) **Andrea Weiner,** Miguel Allende, Thomas Becker y Nora Calcaterra. Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Argentina; CGC, Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

(61) EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE MOLÉCULAS CON POTENCIAL ACTIVIDAD PARA EL TRATAMIENTO DE LAS CATARATAS (Biological evaluation of potentially bioactive agents for the treatment of cataracts) **Patricio Huenchuñir G.**[1], Eduardo Silva S[2]., Ana María Edwards M.[2], Tomás Pérez-Acle[3], María Inés Becker C.[4], Lorena Cantuarias B.[1], Freddy Rivera M.[1], Francisco Vargas B.[2], Patricio Flores M.[2], Carlos F. Lagos[1,3] y Denis Fuentealba P.[2] [1]Laboratorio de Química Médica, Departamento de Farmacia, Facultad de Química. [2]Laboratorio de Química Biológica, Facultad de Química. [3]Centro de Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. [4]Biosonda S.A. phuenchu@uc.cl (Patrocinio: R. Moreno)

(62) GENERACIÓN DE UN RATÓN GENÉTICAMENTE MODIFICADO PARA EL ESTUDIO DEL METABOLISMO NEURONAL DE GLUCOSA (Generation of a genetically modified mouse for the study of glucose metabolism in neurons) **Valeria Larenas[1,2]**, Juan Young[1], l. Felipe Barros[1]. [1]Centro de Estudios Científicos y [2]Universidad Austral de Chile. valeria@cecs.cl

(63) LA FOSFATASA DE PROTEÍNA 1 (PP1) PARTICIPA EN LA ADHESIÓN Y PROLIFERACIÓN DE *Trichomonas vaginalis* (Protein phosphatase 1 (PP1) participates in cell attachment and proliferation of *Trichomonas vaginalis*) **Christian Muñoz[1],** Mauricio Pérez[1], Carlos Cisternas[1], Luis Osorio.[1], Jorge Araya[1], Hernán Sagua[1], Renato Mortara.[2], Franco da Silveira J.F[2], Jorge González[1]. [1]Unidad de Parasitología Molecular Universidad de Antofagasta, Chile. [2]Departamento de Microbiología, Inmunología y Parasitología, Universidad Federal de São Paulo- Brasil. jgonzalez@uantof.cl

(64) CONTROL EPIGENÉTICO DE LA EXPRESIÓN DE GENES RIBOSOMALES DURANTE LA ACLIMATIZACIÓN ESTACIONAL DEL PEZ *Cyprinus carpio*: LA HISTONA VARIANTE H2A.Z (Epigenetic control of the ribosomal gene expression during seasonal acclimatization of the *Cyprinus carpio* fish: the histone variant H2A.Z) **Mauricio Reyes**, Claudia Riquelme, Miguel Ponce, Alfredo Molina, María Inés Vera, Marco Álvarez. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello. malvarez@unab.cl

(65) ESTUDIO MOLECULAR DE LA RESPUESTA GRAVITRÓPICA EN CONÍFERA (Molecular study of the gravitropic response in conifer) Herrera, R[1]., Plomion, C[2]., Ramos, PC[1]., **Valenzuela, C**[1]. [1]IBVB, Universidad de Talca, Chile & [2]INRA, Equipe de Génetique et Amieloration des Arbres Forestiers, Pierroton, France. raherre@utalca.cl

LUNES 8 DE OCTUBRE 2007

08:00 **Instalación de Paneles: Sesión II N° 66 al N° 130 – Salones Lonquimay y Coñaripe**

09:00 – 10:30 **Comunicaciones Libres III – Salón Araucanía**
Presidente: María Paz Marzolo
Secretario: Mario Rosemblatt

INTERACCIÓN *Trypanosoma cruzi*/HOSPEDERO VERTEBRADO: ¿ES TODO TAN MALO? (*Trypanososma cruzi*/vertebrate hosts interactions: Is it all that bad?) **Arturo Ferreira Vigouroux.** Programa de Inmunología. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. aferreir@med.uchile.cl

DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES FRIZZLED EN NEURONAS HIPOCAMPALES: POSIBLE ROL EN DIFERENCIACIÓN SINÁPTICA (Frizzled receptors distribution on hippocampal neurons: potencial role in synaptogenesis) [1,2]**Lorena Varela-Nallar,** [1,2]Catalina Grabowski, [2]Alejandra Alvarez y [1,2]Nibaldo C. Inestrosa. [1]Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), [2]Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

CORRELACIÓN DE REACCIONES DE DTH CONTRA UN LISADO DE MELANOMA CON UNA MAYOR SOBREVIDA Y ESTABILIDAD DE LA ENFERMEDAD EN PACIENTES CON MELANOMA TRATADOS CON TERAPIA CELULAR (Melanoma cell lysate-specific DTH reaction correlates with longer survival and disease stability in vaccinated melanoma patients) **Mercedes López,** Cristian Pereda, Fermín González, Leonel Muñoz, Raquel Aguilera, Alexandra Ginesta, Carlos Ferrada, Milton Larrondo, Flavio Salazar-Onfray. Universidad de Chile, ICBM, Laboratorio Inmunología Antitumoral. melopez@med.uchile.cl

PAPEL DE LOS RECEPTORES P2X Y HEMICANALES EN LA ADQUISICIÓN DE COMPROMISO MIOGÉNICO TEMPRANA EN CÉLULAS C_2C_{12} (Role of P2X receptors and hemichannels during early myogenic commitment in C_2C_{12} cells) **Manuel A. Riquelme,** Carolina Gatica, Roberto Araya,*Enrique Jaimovich y Juan C. Sáez. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica y *Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile, Santiago, Chile. manuel.riquelme@gmail.com

REGULACIÓN EPIGENÉTICA DEL PROMOTOR P1 DEL GEN RUNX2 EN CÉLULAS OSTEOBLÁSTICAS (Epigenetic regulation of the RUNX2 gene P1 promoter in osteoblastic cells) **Berta Henríquez**, Matías Hepp, Fernando Cruzat, Juan Olate y Martín Montecino. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. bhenriqu@udec.cl.

LAS CININAS, MEDIADORES DE ADHESIÓN CELULAR (The kinins, cellular adhesion mediators) **Ehrenfeld Ingrid**, Pavicic MF, Matus CE, Aguilar M, Astroza, A., Figueroa CD. Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia. ingridehrenfeld@uach.cl

10:30 – 11:30 **Café – Presentación Empresas – Visita Paneles: Salones Lonquimay y Coñaripe**

11:30 – 13:30 **SIMPOSIO CONJUNTO FONDAP CENTRO DE ESTUDIOS MOLECULARES DE LA CELULA, UNIVERSIDAD DE CHILE Y FONDAP CENTRO DE REGULACION CELULAR Y PATOLOGIA, P. UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE**
Salón Araucanía
MECANISMOS SINAPTICOS DE LA MEMORIA
Moderadores: Cecilia Hidalgo y Nibaldo Inestrosa

ROLE OF CALCIUM SIGNALS IN SPATIAL MEMORY ACQUISITION AND CONSOLIDATION.
Cecilia Hidalgo, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

PERSISTENCIA DE LA MEMORIA: UNA NUEVA FASE QUE DEPENDE DE SÍNTESIS PROTEICA Y DE BDNF.
Jorge Medina, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

¿ES LA REGIÓN SINÁPTICA, EL BLANCO DEL PÉPTIDO β-AMILOIDE?
Nibaldo C. Inestrosa, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

CHARACTERIZATION OF $A\beta_{1-40}$-INDUCED INFLAMMATORY RESPONSE IN AN ALZHEIMER'S DISEASE ANIMAL MODEL: ROLE OF TNF-α SIGNALING PATHWAY ON COX-2 AND INOS EXPRESSION.
Joao Calixto, Dep. Farmacología, Universidad Federal de Santa Catarina, Brasil.

13:30 – 15:00 **Almuerzo**

15:00 – 16:30 **Comunicaciones Libres IV – Salón Araucanía**
Presidente: María Rosa Bono
Secretario: Alexis Kalergis

REGULATION OF THE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE AND ORGANELLE PHYSIOLOGY BY COMPONENTS OF THE APOPTOSIS MACHINERY (Regulación de la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) y la fisiología de organelos por componentes de la maquinaria apoptótica) F. Lisbona[1], R. Rojas[1], S. Matus[1], S. Korsmeyer[2], L. Glimcher[3] and **Claudio Hetz**[1,2,3]. [1]Instituto de Ciencias Biomédicas, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile, Chile; [2]Howard Hughes Medical Institute, Dana–Farber Cancer Institute, USA; [3]Department of Immunology and Infectious Diseases, Harvard School of Public Health, Boston, USA. chetz@med.uchile.cl (Patrocinio: L. Leyton).

PAPEL DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS EN LA PATOGÉNESIS DEL LUPUS (Rol of dendritic cells in the pathogenesis of lupus) **Alejandra Gleisner[1],** Paz Reyes[2], Jennifer Alfaro[1], Leonardo Vargas[1], Valeska Simon[1], Mario Rosemblatt[1,2,3], María Rosa Bono[1]. [1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, [2] Universidad Andrés Bello, [3]Fundación Ciencia para la Vida. alejandragleisner@yahoo.es

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE MEGALINA POR AGONISTAS DE FXR Y PPARs (Megalin expression regulation by FXR and PPARs agonists) **Bárbara Ramos**, Silvia Zuñiga, Meenakshisundaram Ananthanarayanan, Marco Arrese, Miguel Bronfman, María Paz Marzolo. Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología (CRCP), Facultad de Ciencias Biológicas, PUC. barbara.ramos@gmail.com

LA VIDA MEDIA DE INTERACCIÓN TCR/pMHC DETERMINA LA FORMACIÓN Y NATURALEZA DE LA SINAPSIS INMUNOLÓGICA (The half-life of TCR/pMHC interaction determines the assembly and nature of the immunological synapse) **Leandro J. Carreño[1],** Erick M. Riquelme[1], Nicolas Espagnolle[3], Salvatore Valitutti[3] y Alexis M. Kalergis[1,2]. [1]Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy, Facultad de Ciencias Biológicas, [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile, [3]INSERM-U563, Institut Claude de Preval, Toulouse, France. akalergis@bio.puc.cl

LA HIPERTROFIA O MUERTE DEL CARDIOMIOCITO GATILLADA POR HIERRO DEPENDE DE LOS NIVELES DE ROS Y ÓXIDO NÍTRICO (Cardiomyocyte hypertrophy or death triggered by iron depends of ROS and nitric oxide) **Juan Pablo Muñoz,** Hernán Alcaino, Marco Tulio Núñez, Cecilia Hidalgo, Sergio Lavandero. Centro FONDAP CEMC e Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile. jpmunoz@ciq.uchile.cl

(96) EL CO-TRANSPORTADOR DE SODIO-ASCORBATO 2 (SVCT2) SE EXPRESA EN FIBRAS MUSCULARES LENTAS DURANTE EL DESARROLLO DE POLLO (Sodium vitamin C co-transporter 2 (SVCT2) is expressed in slow-twitch muscle fibres during chick myogenesis) **Marcela Low**, Bryan Morales, Evelyn Avilés, Daniel Sandoval, Francisco Nualart, Juan Pablo Henríquez. Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Concepción, Chile. jhenriquez@udec.cl

16:30 – 17:30 **Café – Presentación Empresas – Visita Paneles: Salones Lonquimay y Coñaripe**

17:30 – 19:00 **Comunicaciones Libres V – Salón Araucanía**
Presidente: Francisco Nualart
Secretaria: Ariel Orellana

LA INTERACCIÓN DEL RECEPTOR DE $1\alpha,25(OH)_2D_3$ CON LA MATRIZ NUCLEAR ES INDEPENDIENTE DE SU ASOCIACIÓN CON CO-REGULADORES TRANSCRIPCIONALES (The interaction of the $1\alpha,25(OH)_2D_3$ receptor with the nuclear matrix is independent of its association with transcriptional co-regulators) Gloria Arriagada, Juan Olate, **Martín Montecino.** Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. mmonteci@udec.cl

LOS TRANSPORTADORES DE UDP-GLUCOSA AtUTr1 y AtUTr3 SON ESENCIALES PARA EL DESARROLLO DEL POLEN EN *Arabidopsis thaliana* (UDP-Glucose transporters AtUTr1 and AtUTr3 are essential for pollen development in *Arabidopsis thaliana*) **Gabriel León,** Francisca Reyes y Ariel Orellana. Núcleo Milenio de Biología Celular Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello. aorellana@unab.cl

DINÁMICA CELULAR Y FUNCIÓN DE GLUCOQUINASA EN CONDICIONES DE HIPERGLICEMIA (Cellular dynamic and brain GK function in hyperglycemic conditions) **Carola Millán,** Fernando Martínez, Christian Cortés, María José Yañez, Isabel Lizama, Francisco Nualart y María de los Angeles García. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción.

GLIPICÁN REGULA LA DIFERENCIACIÓN MUSCULAR ESQUELÉTICA SECUESTRANDO A FGF-2 EN BALSAS LIPÍDICAS (Glypican regulates skeletal muscle differentiation sequestering FGF-2 in lipid rafts) **Jaime Gutiérrez,** Enrique Brandan. Laboratorio de Diferenciación Celular y Patología, FONDAP-CRCP, MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

ADAM17 ES UN REGULADOR CLAVE DEL PROCESAMIENTO DEL RECEPTOR DE NEUROTROFINAS p75 INDUCIDO POR LA ACTIVACIÓN DE TrkA. ¿UN NUEVO MECANISMO DE REGULACIÓN DE LA SEÑAL NEUROTRÓFICA? (ADAM17, a key regulator of p75 processing induced by TrkA activation. A new neurotrophin signaling mechanism? **Soledad Urra**[1], Edgardo Allende[1], Willem Annaert[2] y Francisca C Bronfman[1]. [1]Centro de Regulación Celular y Patología (FONDAP), Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, [2]Membrane Trafficking Laboratory, KULeuven/VIB4, Belgium. murragamboa@gmail.com

GENERACIÓN DE UN RATÓN GENÉTICAMENTE MODIFICADO PARA EL ESTUDIO DEL METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN ASTROCITOS (Generation of a genetically modified mouse for the study of glucose metabolism in astrocytes) **Anitsi Loaiza[1,2],** Juan Young[1], l. Felipe Barros[1]. [1]Centro de Estudios Científicos y [2]Universidad Austral de Chile. anitsi@cecs.cl

19:00 – 20:30 **FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA CELULAR**
Salón Araucanía
Premio Mejores Tesis de Pregrado y Doctorado 2007
Presiden: Federico Leighton – Miguel Allende

PREGRADO: **Andrés Herrada Hidalgo,** Licenciatura en Bioquímica,
Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.
Rol de los receptores FcγRs en la potenciación de la respuesta inmune específica anti-bacteriana mediada por células dendríticas.
(Director de Tesis: Dr. Alexis Kalergis)

DOCTORADO: **Dr. Gonzalo Yévenes Crisóstomo,** Doctorado en Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.
Regulación de receptores de Glicina por sistemas de transducción de señales acoplados a proteínas G. Papel de las Proteínas G en la potenciación del receptor de Glicina por etanol.
(Director de Tesis: Dr. Luis Aguayo)

20:30 **Cena**

22:00 – 23:30 **Presentación de Paneles - Sesión II (N° 66 al N° 130)**
Salones Lonquimay y Coñaripe
Coordinadores: Paulina Bull – Francisco Nualart – Mauricio González

(66) BRADICININA 1-5 (BK1-5): ¿UN PRODUCTO DE DEGRADACIÓN INACTIVO O UNA NUEVA CININA? (BK1-5: An inactive product of degradation or a new kinin?) **Astroza A,** Matus CE, Ehrenfeld P**,** Pavicic F, Figueroa CD. Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia. aastroza@uach.cl

(67) EL GEN DE Bcl-2 HUMANO PRESENTA POSIBLES ELEMENTOS DE RESPUESTA A PPARs (The human Bcl-2 gene contains putative PPARs response elements) **Bernal, C**., Caballero, B., Fuenzalida K., Domínguez, C., Perez-Acle, T., y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) y Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Center for Genomics and Bioinformatics, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. U. Católica de Chile.

(68) LA INHIBICIÓN DE AKT O PI3K INDUCE APOPTOSIS DE CÉLULAS GERMINALES EN RATAS MACHOS PREPÚBERES (The inhibition of PI3K or AKT induces apoptosis of germ cells in prepubertal male rats) **Jurriaan Brouwer-Visser** y Ricardo D. Moreno Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile mail@jurriaan.com

(69) LA EXPRESION DE SINAPSINA Y DINAMINA SON REGULADAS NEGATIVAMENTE POR ZINC INTRACELULAR (Synapsin and dynamin expression are down-regulated by intracellular zinc) **Castro P.** [Ψ§], Sepúlveda F.[§], Waldron, J.[Ψ], Fuentealba J.[§], Roa J.P.[§], Aguayo L.G.[§], & Opazo C[Ψ]. [Ψ]Laboratorio de Neurobiometales, [§]Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. carlosopazo@udec.cl

(70) PAPEL DEL RECEPTOR DEL INOSITOL TRISFOSFATO (IP_3R) EN LA REGULACIÓN DE LA AUTOFAGIA (Inositol trisphosphate receptor in the regulation of autophagy) **Alfredo Criollo[1,2],** Jose Miguel Vicencio[1,2], Guido Kroemer[1] y Sergio Lavandero[2]. INSERM U848[1], FONDAP Centro de Estudios Moleculares de la Célula CEMC[2]. acriollo@ciq.uchile.cl

(71) LA ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS (MSC) CORRIGE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA EN MODELOS ANIMALES (MSC systemic administration improves diabetic nephropathy in animal models) **Marcelo Ezquer[1],** Fernando Ezquer[1], Daniel Carpio[2], Alejandro Yañez[2], Paulette Conget[1]. [1]Instituto de Ciencias, Facultad de Medicina Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo [2]Instituto de Bioquímica, Universidad Austral. mezquer@udd.cl

(72) EL EFECTO DE LA SOBREEXPRESIÓN DE MLN64 EN CÉLULAS CHO SUGIERE UN PAPEL POTENCIAL DE ESTA PROTEÍNA EN MUERTE CELULAR (The effect of the overexpression of MLN64 in CHO cells suggests a potential role for this protein in cell death) **Leopoldo Galdames[*],** Juan Tichauer[*], Gabriela Morales[*], Andrés Klein[*], Alejandra Alvarez[#], Silvana Zanlungo[*]. [*]Departamento Gastroenterología, [#]Departamento Biología Celular y Molecular, P. U. Católica de Chile. pologv@gmail.com

(73) PKC-α ACTIVATION UP-REGULATES CAVEOLIN-1 AND -2 VIA ERK (MAPK) (La activación de PKC-α incrementa los niveles proteicos de Caveolina-1 y -2 via ERK (MAPK) **Jorge L. Gutiérrez-Pajares**[1], Gareth Owen[2], Lisette Leyton[1], Andrew Quest[1]. [1]FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile and [2]Unidad de Reproducción y Desarrollo, P. Universidad Católica de Chile. aquest@med.uchile.cl

(74) D609-INDUCED NECROTIC CELL DEATH IN LYMPHOID CELLS (D609 induce muerte celular necrótica de células linfoides) **Mauricio Henriquez**, Cristian Arredondo, Vicente Torres, Joan Villena and Andrew Quest. FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. aquest@med.uchile.cl

(75) IDENTIFICACIÓN DE LA MAPK p38 COMO UN ELEMENTO RÍO ABAJO DE LA PKA EN LA REGULACIÓN DE LA ENDOCITOSIS DEL RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL (EGFR) (MAPK p38 as a down stream element of the PKA in the regulation of the endocytosis of the EGFR) **Juan E. Jung** y Alfonso González. Depto. Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad Medicina. Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología "Joaquín Luco" (CRCP). Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile y MIFAB. jjung@puc.cl

(76) A ROLE OF THE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE (UPR) AND ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS IN PRION-RELATED DISORDERS (Rol de la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) en enfermedades relacionadas con priones) **F. Lisbona**[1], M. Torres[1], S. Matus[1], C. Soto[2] and C. Hetz[1]. [1]Instituto de Ciencias Biomédicas, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile, Chile; [2]University of Texas Medical Branch, Galveston, USA. chetz@med.uchile.cl (Patrocinio: A. Quest)

(77) AGONISTAS DE PPARβ Y PPARγ INDUCEN DIFERENCIACIÓN DE PRE-OLIGODENDROCITOS A OLIGODENDROCITOS MADUROS (PPARβ and PPARγ induces differentiation of pre-oligodendrocyte to mature oligodendrocytes) **Martínez, G.R.** y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) y Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

(78) ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD DE PROLIFERACIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE CULTIVOS PRIMARIOS DE LIGAMENTO PERIODONTAL, PULPA DENTAL Y PERIOSTIO HACIA EL LINAJE OSTEOGÉNICO (Analysis of the proliferative and osteogenic differentiation potential in primary cultures of periodontal ligament, dental pulp and periostium) **Constanza Martínez**[1*], Pablo Astudillo[2], Patricio C Smith[3], Susana Rios[2], J. Pablo Rodríguez[2]. Facultad de Ciencias[1], INTA[2], Facultad de Odontología[3], Universidad de Chile. connymart@yahoo.com

(79) MUTACIÓN DEL DOMINIO CITOPLASMÁTICO DEL RECEPTOR DE TIPO II PARA BMPS DISMINUYE SU GRADO DE GLICOSILACIÓN (Cytoplasmic domain mutation of type II BMP receptor decreases their glycosylation degree) **Wilda Olivares** y Nelson Osses. Unidad de Bioquímica, Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. (Patrocinio: J. Reyes)

(80) DISTRIBUCIÓN INTRACELLULAR DEL PROTEOSOMA 20S DE *Trypanosoma cruzi* (Intracellular distribution of the *Trypanosoma cruzi* 20S proteasome). **Luis Osorio,** Bessy Gutiérrez, Christian Muñoz, Renato Mortara, Hernán Sagua, Jorge Araya, Jorge González. Unidad de Parasitología Molecular, Universidad de Antofagasta.

(81) VITAMINA C ESTIMULA DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES (Vitamin C increases stem cells differentiation) **Patricia Pastor*,** Alejandra Silva*, Agustín Martínez[&], Vania Figueroa[&], Francisco Nualart*. *Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción. [&]Centro de Neurociencia, Valparaiso. ppastor@udec.cl

(82) PARTICIPACIÓN DE CWN-1 (LIGANDO WNT) EN LA DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES $GABA_A$ EN *Caenorhabditis elegans* (Role of CWN-1 (Wnt-ligand) on the distribution of $GABA_A$ receptors in *Caenorhabditis elegans)* **Rebolledo DL[1].**, Minniti AN[1], Mesa RA[1], Kohn RE[2] e Inestrosa NC[1]. [1]Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), FCB, Pontificia Universidad Católica de Chile. [2]Ursinus College, USA. dvreboll@uc.cl

(83) ERK1/2 EN LA PROTECCIÓN DEL CARDIOMIOCITO AL ESTRÉS HIPOSMÓTICO (ERK1/2 on the protection of cardiac myocyte to hyposmotic stress) **Rojas-Rivera Diego**, Jessica Díaz-Elizondo, Daniela Salas, Mario Chiong, Sergio Lavandero. Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile. diego_qf@yahoo.es

(84) REGULACIÓN ALTERADA DE LA EXPRESIÓN DE RUNX2 Y DE CBFβ EN CÉLULAS DE OSTEOSARCOMA DURANTE EL CICLO CELULAR (Regulation of Runx2 and Cbfβ expression is altered during osteosarcoma cell cycle) **Inga San Martín**[1], Marcia Gaete[1], Karina Villegas[1], Omar Flores[1], Jane Lian[2], Janet Stein[2], Gary Stein[2], Andre van Wijnen[2], Mario Galindo[1]. [1]Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [2]Department of Cell Biology and Cancer Center, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, USA. ingasmp@gmail.com

(85) PAPEL DE LA $[Ca^{2+}]$ LIBRE INTRACELULAR EN LA PERMEABILIZACIÓN CELULAR POR HEMICANALES EN RESPUESTA A INHIBICIÓN METABÓLICA (Role of free intracellular $[Ca^{2+}]$ in cell permeabilization through hemichannels induced by metabolic inhibition) **Kenji Shoji**, Kurt Schalper, Mauricio Retamal, Juan C. Sáez. Pontificia Universidad Católica de Chile.

(86) LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR ErbB2 ESTÁ ASOCIADA A LA MUCOSA METAPLÁSICA DE LA VESÍCULA BILIAR, ETAPA PREVIA AL DESARROLLO DE LA NEOPLASIA (The expression of ErbB2 receptor is associated to epithelial metaplasia, an early stage of gallbladder carcinoma) **Toledo C,** Del Pozo M, Figueroa CD, Poblete MT. Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Universidad Austral de Chile; Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Regional, Valdivia.

(87) PPARβ PARTICIPA EN LA DIFERENCIACIÓN AL LINAJE OLIGODENDROCÍTICO Y SE ENCUENTRA REPRIMIDO EN LÍNEAS CELULARES PROVENIENTES DE GLIOMAS (PPARβ participates in differentiation to the oligodendrocyte lineage and it is repressed in glioma cell lines) **Urrutia, C.R.,** Leisewitz, A.V. y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) y Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

(88) PARTICIPACIÓN DE DINAMINA-1 EN LA ENDOCITOSIS DEL RECEPTOR $GABA_B$ (Participation of dynamin-1 in endocytosis of $GABA_B$ receptor) **Vargas K.J.** ǂ§ y A. Couve **§**. ǂ Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile; § Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. karinaj.vargas@gmail.com

(89) ANGIOTENSINA II GATILLA APOPTOSIS EN FIBROBLASTOS CARDIACOS QUE SOBREXPRESAN EL RECEPTOR AT1 (Angiotensin II triggers apoptosis of cardiac fibroblast overexpressing AT1 receptor) **Raúl Vivar-Sánchez**, Francisca Mateluna, Sergio Lavandero, Guillermo Diaz-Araya. Centro FONDAP-CEMC. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Fabian_fyc_uc@hotmail.com

(90) ESTUDIOS DE CO-LOCALIZACIÓN ENTRE FBPasa E INSULINA EN PÁNCREAS DE RATAS NORMALES EN DESARROLLO Y DIABÉTICAS DE LARGO PLAZO (Co-localization studies between FBPase and insulin in pancreas of normal developing and long-term diabetic rats) **Romina Bertinat**, Francisco Westermeier, Zahady Velásquez, Moisés Pérez, Joaquín Vivar, Francisco Montero, Juan Carlos Slebe y Alejandro J. Yáñez. Laboratorio de Enzimología, Universidad Austral de Chile. Valdivia-Chile. rominabertinat@uach.cl

(91) EFECTOS DE STEM CELL FACTOR SOBRE LA REGULACIÓN DE pH INTRACELULAR EN CÉLULAS ESPERMATOGÉNICAS DE RATA (Effects of stem cell factor on pHi regulation in rat spermatogenic cells) **Escobedo Noelia A.[1],** Moreno Ricardo D.[2], Benos Dale J.[3] y Reyes Juan G.[1,3]. Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso[1], Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile[2], Department of Physiology and Biophysics, University of Alabama-Birmingham[3]. nescobedo@gmail.cl

(92) MODULACIÓN EN LA ACTIVIDAD Y LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE FBPasa EN DISTINTAS CONDICIONES METABÓLICAS (Modulation in the activity and subcellular localization of FBPase in different metabolic conditions) **Juan Pablo Pontigo,** Romina Bertinat, Carlos Spichiger, Juan Carlos Slebe y Alejandro Yánez. Laboratorio de Enzimología, Universidad Austral de Chile. jppontigo@gmail.com

(93) ACIDO ASCÓRBICO INHIBE EL TRANSPORTE DE GLUCOSA EN ASTROCITOS QUE EXPRESAN GLUT3 (Ascorbic acid inhibits glucose transport in astrocytes expressing GLUT3) **Felipe Beltrán[1]**, Cristian Zaelzer[2], Ilona I. Concha[1] y Maite Castro[1]. [2]Laboratorio de Biofísica, CECS, [1]Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. macastro@uach.cl

(94) EFECTO DE GLUTAMATO EN LA ACUMULACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN ASTROCITOS (Glutamate effect in astrocytes vitamin C accumulation) **Pedro Cisternas** y Francisco Nualart. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción. pecister@udec.cl

(95) DISMINUCIÓN DE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE eNOS E iNOS POR EL PÉPTIDO NATRIURÉTICO CEREBRAL EN MÚSCULO LISO MIOMETRIAL (Reduced expression and activity of eNOS and iNOS by brain natriuretic peptide in myometrial smooth muscle) [1]**Delpiano, A.M.**, [1]Cuello, M., [2,3]Escudero, C., [2,3]Sobrevia, L., [2,3]Casanello, P., [1]Carvajal, J.A. [1]Laboratorio de Medicina Materno-Fetal, [2]Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), [3]Laboratorio de Investigación en Perinatología (PRL), Departamento de Obstetricia y Ginecología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. delpiano@med.puc.cl

(96) FALTA DE FUNCIÓN DE hif-1α Y hif-2α DURANTE EL DESARROLLO EN PEZ CEBRA (Knock-down of hif-1α and hif-2α in zebrafish development) **Daniela Pérez-Munizaga[2],** Diego A. Rojas[3] y Ariel E. Reyes[1]. [1]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. [2]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Andrés Bello. [3]Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ariel.reyes@udp.cl

(97) INTERACCIÓN DE LA PROTEÍNA QUINASA SPAK CON EL CANAL DE CLORURO CLC-2. EFECTO SOBRE LA CINÉTICA DE DESACTIVACIÓN DEL CANAL (Interaction between SPAK protein kinase and ClC-2 chloride channel. Effect on the deactivation kinetics of the channel) **Carola Maturana[1,2],** María I. Niemeyer[1] y Pablo Cid[1]. Centro de Estudios Científicos, (CECS)[1] Valdivia y Universidad Austral de Chile[2]. pcid@cecs.cl

(98) EXPRESIÓN DE GLICÓGENO FOSFORILASA EN PÁNCREAS DE RATAS NORMALES Y DIABETICAS (Expression of glycogen phosphorylase in pancreas of normal and diabetic rats) **Diego Morales**, Francisco Westermeier, Zahady Velásquez, Joaquín Vivar, Juan Carlos Slebe y Alejandro Yáñez. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia. damsch_18@hotmail.com

(99) DAÑO CEREBRAL E INFLAMACIÓN INDUCEN LA EXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR SVCT2 (Brain damage and inflammation induce SVCT2 transporter expression) **Alejandra Silva**[1], Katterine Salazar[1], Manuel Cifuentes[2], Margarita Pérez-Martín[2], Francisco Nualart[1]. [1]Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción. [2]Laboratorio Fisiología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga.

(100) THE ENHANCED EFFICACY AND REDUCED TOXICITY OF MULTIFACTORIAL VACCINES COMPARED TO UNITARY ADJUVANTS AS CANCER VACCINES. Cory L. Ahonen[1,2], Anna Wasiuk[1,2], Shinichiro Fuse[1], Mary Jo Turk[1,2], Marc M. Ernstoff[3], James D. Gorham[1,4], Ross M. Kedl[5], Edward J. Usherwood[1], Randolph J. Noelle[1,2,6]. [1]Department of Microbiology & Immunology, Dartmouth Medical School and the [2]Norris Cotton Cancer Center, 1 Medical Center Drive, Lebanon, NH 03756, USA; and [3]Medical Oncology Immunotherapy Group, Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, NH 03756, USA; [4]Department of Pathology, Dartmouth Medical School, Lebanon, NH 03756, USA; and [5]Integrated Department of Immunology, University of Colorado Health Sciences Center, Denver, CO 80206.

(101) EFECTO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS SOBRE LA ADHESIÓN, INVASIÓN Y DIFERENCIACIÓN MIOFIBROBLÁSTICA DE FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS (Effect of platelet-rich plasma on cell adhesion, cell invasion and myofibroblastic differentiation in human gingival fibroblasts) **Cáceres M[1]**, Hidalgo R[2], Sanz A[2], Riera P[2], Martínez J[1], Smith PC[2]. INTA[1] y Facultad Odontología[2], Universidad de Chile.

(102) GENERACIÓN *IN VITRO* DE CÉLULAS T REGULADORAS CON ACTIVIDAD SUPRESORA *IN VIVO* Y POTENCIAL DE HOMING A INTESTINO (Regulatory T cells generated *in vitro* show suppressive activity *in vivo* and a gut-homing phenotype) **De Calisto J[1]**, Reyes PA[1,2], Osorio F[1], Fierro A[3], Bono MR[1] y Rosemblatt M[2,4]. [1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, [2]Universidad Andrés Bello, [3]Clínica Las Condes, [4]Fundación Ciencia para la Vida. jaimedecalisto@yahoo.es

(103) CALRETICULINA DE *Trypanosoma cruzi* Y EL PROBLEMA AUTOINMUNE EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS (*Trypanosoma cruzi* calreticulin and the autoimnmune problem in Chaga's disease) **Carolina Hager Ribeiro**[1], María Carmen Molina[1], Lorena Aguilar[1], Margarita Rodríguez[1], Ismael Maldonado[1], Carolina Valck[1], Ramón Martínez[2], Carlos González[2], Wilhelm Schwaeble[3] y Arturo Ferreira[1]. [1]Programa de Disciplinario de Inmunología - Facultad de Medicina - Universidad de Chile; [2]Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad de Chile; [3]Department of Infection, Immunity and Inflammation - University of Leicester, UK. chager@med.uchile.cl

(104) REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR TIPO TOLL 4 (TLR4) POR TNFα Y GLUCOCORTICOIDES (Toll-like receptor 4 regulation by TNFα and glucocorticoids) **Ramón D. Pérez**, Rodrigo Valenzuela, Caroll Beltrán, Enzo Candia, Marcela A. Hermoso. Laboratorio de Inmunidad Innata, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

(105) *Neisseria gonorrhoeae* GENERA UNA RESPUESTA INMUNE SUPRESORA DOMINADA POR CÉLULAS INMUNOCOMPETENTES TGFβ-1+ (*Neisseria gonorrhoeae* induces an immune response dominated by TGFβ-1+ immunocompetent cells) **Sebastián Reyes-Cerpa,** Enzo Candia, Kevin Maisey, Lorena Salazar, Juan Carlos Aguillón, María Soledad Hidalgo, Tanya Neira, Claudio Acuña-Castillo, Mónica Imarai. Laboratorio de Inmunología, Departamento de Biología. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (Patrocinio: M.S. Depix)

(106) PARTICIPACIÓN DE CXCR4b EN LA MIGRACIÓN DE CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE DURANTE LA MIELOPOYESIS PRIMITIVA DE PEZ CEBRA (*Danio rerio)* (Role of Cxcr4b in the migration of immune cells during zebrafish mielopoiesis) **Ruiz P.**, Fernández JA., Concha M.L. Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo. ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. mconcha@med.uchile.cl

(107) EXPRESIÓN Y LOCALIZACIÓN DE RECEPTORES DE QUIMIOQUINAS EN CELULAS TUMORALES DEL CÁNCER PAPILAR DE TIROIDES (Expression and localization of chemokines receptors in papillary thyroid carcinoma) **Tobar, H.[1,3]**, Leiva, A.[1], Böhmwald K[3], González, H.[1,2], Riedel, C.[3], Kalergis, A.[1,2]. [1]Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile. [3]Universidad Andres Bello. akalergis@bio.puc.cl

(108) CARACTERIZACIÓN DE LA VÍA INTRACELULAR DEL RECEPTOR TIPO TOLL 2 (TLR2) ACTIVADA POR LIPOPÉPTIDOS Y GLUCOCORTICOIDES (Characterization of the Toll-like receptor 2 (TLR2) intracellular pathway induced by lipopeptides and glucocorticoids) **Rodrigo Valenzuela[1]**, Caroll Beltrán[1,2], Enzo Candia[1], Sergio Arancibia[1], Marcela A. Hermoso[1]. [1]Programa de Inmunologia, ICBM, Facultad de Medicina, [2]DIC, Hospital Clínico, Universidad de Chile.

(109) RELEVANCIA DE REGIÓN AMINO-TERMINAL DEL DOMINIO CITOPLASMÁTICO DEL RECEPTOR DE GLICINA EN LA UNIÓN A Gβγ (Relevance of the amino-terminal part of the glycine receptor cytoplasmic domain in the binding with Gβγ) **Avila, A.**, Guzmán, G., Fuentealba, J., Opazo, C., Aguayo, L. Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. jguzman@udec.cl

(110) INDUCCIÓN DE LA PLASTICIDAD ESTRUCTURAL EN NEURONAS ESPINALES E HIPOCAMPALES DEPENDE DE LA COMPOSICIÓN DE LAS SUBUNIDADES DEL RECEPTOR DE NMDA (Induction of structural plasticity in spinal and hippocampal neurons depends on the NMDA receptor subunit composition) **Fernando Bustos[1]**, Manuel Lagos[1], Fernando Sepúlveda[1], Carlos Opazo[2], Luis Aguayo[2], Martin Montecino[3] y Brigitte van Zundert[1]. [1]Dept Physiopathology, [2]Dept Physiosiology, [3]Dept Biochem. and Mol. Biol. Faculty of Biological sciences, University of Concepción. bvanzund@udec.cl

(111) CARACTERIZACIÓN DE LAS DPSs DE LAS NEURONAS DEL TELENCÉFALO DE RATAS HIPOTIROIDEAS (Characterization of PSDs from neurons of hypothyroids rats) **Cortes C[1].,** Ibarra P[1], Pino C[1], Perez de Arce K[2], Alvarez A[2], Eugenin E[3], Aliaga E[4], Riedel C[1]. [1]Universidad Andrés Bello. [2]Universidad Católica, [3]Albert Einstein College of Medicine, [4]Universidad de Valparaíso.

(112) EFECTOS DEL PEPTIDO SOLUBLE $A\beta_{1-40}$ SOBRE CULTIVOS DE NEURONAS HIPOCAMPALES (Effects of soluble peptide $A\beta_{1-40}$ in hippocampal cultured neurons) **Cuevas M.E.[1]**, Muñoz G.[2], Haensgen H.[1], Sepúlveda F.[1], Parodi J.[1], Opazo C.[2], Aguayo L.G.[1]. [1]Laboratorio de Neurofisiología, [2]Laboratorio de Neurobiometales, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. mcuevas@udec.cl

(113) EL FACTOR PRO-APOPTÓTICO BIM MEDIA LA PÉRDIDA DE MOTONEURONAS EN UN MODELO TRANSGÉNICO DE ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA (The proapoptotic BCL-2 family member BIM, mediates motoneuron loss in a model of amyotrophic lateral sclerosis) **S. Matus[1]**, S. Korsmeyer[2], L. Glimcher[3] and C. Hetz[1,2,3]. [1]Instituto de Ciencias Biomédicas, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile, Chile; [2]Howard Hughes Medical Institute, Dana–Farber Cancer Institute, USA; [3]Department of Immunology and Infectious Diseases, Harvard School of Public Health, Boston, USA. chetz@med.uchile.cl (Patrocinio: C. Metz).

(114) REGULACIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN: UNA POSIBLE NUEVA FUNCIÓN PARA MAP (Neurotransmission regulation: a possible new function for MAP1B) **Carolina Montenegro V[1]**, Carlos Rozas[2], Mariano Bisbal[3], Bernardo Morales[2], Alfredo Cáceres[3] y Christian González-Billault[1]. (1)Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile (2)Facultad de Ciencias, Universidad de Santiago (3)Instituto Mercedes y Martín Ferreyra, Córdoba, Argentina. chrgonza@uchile.cl - carolamontenegrovenegas@yahoo.com

(115) GALECTINA-8 PROMUEVE SOBREVIDA Y PROTEGE A LAS NEURONAS FRENTE A ESTÍMULOS APOPTÓTICOS (Galectin-8 promotes survival and protects neurons against apoptotic stimulus) **Evelyn Pardo[1,2]**, Andrea Soza[1,2], Juan Godoy[2], Nibaldo C. Inestrosa[2], Alfonso González[1,2]. [1]Depto. Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad Medicina. [2]Centro FONDAP Regulación Celular y Patología "Joaquín Luco" (CRCP). Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile y MIFAB. epardo@uc.cl

(116) EL ESTRÉS OXIDATIVO MODIFICA LA DISTRIBUCIÓN SUBCELULAR DEL EXON III DE BDNF EN NEURONAS HIPOCAMPALES EN CULTIVO (Oxidative stress modifies subcellular distribution of exon III BDNF in hippocampal cultured cells) **Marilyn Paz[1],** Ana Abbott[2], Edra Jiménez[2], Fernanda Caviares[3] y Esteban Aliaga[2]. [1]Departamento Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. [2]Centro de Neurobiología y Plasticidad del Desarrollo, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. [3]Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. esteban.aliaga@uv.cl (Patrocinio: C. Riedel)

(117) EL TRANSPORTE INTRACELULAR DEL RECEPTOR $GABA_B$ ES REGULADO POR MARLIN-1 Y KINESINA I (The intracellular transport of $GABA_B$Rs is regulated by Marlin-1 and kinesin I) **Vidal, R.[‡§]**, Morales, C.[§], Valenzuela, J.I.[§] y Couve, A.[§]. [§]Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [‡]Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. renevidalg@gmail.com

(118) EL DOMINIO CITOPLASMÁTICO DE xSINDECÁN 4 PARTICIPA EN LA REGULACIÓN DE LA VÍA WNT NO-CANÓNICA (The cytoplasmic domain of xSyndecan4 regulates the non-canonical Wnt pathway) **Loreto Carvallo,** Rosana Muñoz y Juan Larraín. FONDAP Biomedicina. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. lcarvallo@bio.puc.cl

(119) EFECTO INDIRECTO DEL GEN MATERNO *BUCKY BALL* EN LA ORGANIZACIÓN DEL CITOESQUELETO DURANTE LA SEGREGACIÓN OVOPLÁSMICA EN EL ZIGOTO DEL PEZ CEBRA (Indirect effect of the maternal gen *bucky ball* in the organization of the cytoskeleton during ooplasmic segregation in the zebrafish zigote) **Luis Ricardo Fuentes**, Rodrigo Álvarez y Juan Fernández. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. ricfuentes@gmail.com

(120) COMPARACIÓN DE PERFILES TEMPORALES DE EXPRESIÓN GÉNICA ENTRE ESPECIES DEL GÉNERO *Drosophila* (Comparison of temporal gene expression profiles among *Drosophila* species) **Christian Hödar,** Angélica Guajardo, Patricia Hanna, Verónica Cambiazo. Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA – Universidad de Chile & Center for Genomics of the Cell (CGC). chodar@inta.cl

(121) IDENTIFICACIÓN DE REGIONES REGULATORIAS DEL GEN *dlg* DE *Drosophila* (Identification of regulatory regions of the *Drosophila dlg* gene) **Pablo Majóo** y Jimena Sierralta. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y CENI-ICM.

(122) GENES REGULADOS POR LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE Shh/Gli, INVOLUCRADOS EN PROCESOS DE CRECIMIENTO CELULAR (*neogenina 1*) Y AUTOFAGIA (*atg5*) (Shh/Gli pathway regulated genes, involved in cell growth [*neogenin 1*] and autophagy [*atg5*]) **Luis A. Milla,** Miguel L. Allende y Verónica Palma. Center for Genomics of the Cell y Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

(123) LA LÍNEA LATERAL DEL PEZ CEBRA, UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE MUERTE Y REGENERACIÓN DE CÉLULAS CILIADAS (Zebrafish lateral line as a model for studying hair cell death and regeneration) **Francisco Olivari**, Pedro Hernández y Miguel Allende. CGC, Facultad de ciencias, Universidad de Chile. allende@uchile.cl

(124) LA VÍA WNT/β-CATENINA ESTÁ INVOLUCRADA EN EL DESARROLLO DE LA LÍNEA LATERAL DEL PEZ CEBRA (Wnt/β-catenin pathway is envolved in lateral line development in zebrafish) **Leonardo Valdivia**, Eduardo Villablanca, Rodrigo Young, Miguel Allende. CGC, Facultad de ciencias, Universidad de Chile. allende@uchile.cl

(125) EXPRESIÓN COMPARATIVA DE PEPCK Y FBPasa EN HÍGADO Y PÁNCREAS DE RATAS EN DESARROLLO (Comparative expression of PEPCK and FBPase in liver and pancreas during rat development) **Zahady Velásquez**, Romina Bertinat, Diego Morales, Juan Pablo Pontigo, Joaquín Vivar, Alejandro Yánez y Juan Carlos Slebe. Laboratorio de Enzimología, Universidad Austral de Chile. zahady@gmail.com

(126) ÍNDICES DE ESCALAMIENTO EN COMBINACIÓN CON ALGORITMOS DE DESPLAZAMIENTO CUANTIFICAN LA COLOCALIZACIÓN DE ESTRUCTURAS SUBCELULARES MEDIANTE MICROSCOPÍA DE FLUORESCENCIA (Scaling indices in combination with defined displacement algorithms quantify colocalization of subcellular structures in fluorescence microscopy) **Härtel S**[1], Ramirez O[1], Couve A[1], Espinosa M[12], Villalon M[2], Best C[3] & Räth C[4]. [1]ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [2] Facultad de Ciencias Biológicas, PUC. [3]Max-Planck-Institutes of Biochemistry (Martiensried), [4] Extraterrestrial Physics (Garching), Alemania. shartel@med.uchile.cl

(127) DESARROLLO DE MODELO MURINO DE GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL Y SEGMENTARIA (GSFS) DEBIDO A MUTANTES DEL CANAL DE CALCIO TRPC6 (Generation of a murine model of FSGS with mutations in the calcium channel Trpc6) **Paola Krall**[(a,b)], César Canales[(a,b)], Katherina Walz[(a)]. (a) Centro de Estudios Científicos, CECS, Valdivia, Chile. (b) Universidad Austral de Chile. paolakrall@cecs.cl

(128) LA EXPRESIÓN DE LOS TRANSPORTADORES DE UDP-GLUCOSA *AtUTr1* Y *AtUTr3* SUGIERE UNA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL COMÚN CON GENES INVOLUCRADOS EN PLEGAMIENTO PROTEICO (The expression of the UDP-glucose transporters *AtUTr1* and *AtUTr3* suggest a common transcriptional regulation with genes involved in protein folding) **Adrian Moreno** y Ariel Orellana. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello. aorellana@unab.cl

(129) ANALISIS DE LA EXPRESSION DE GENES INVOLUCRADOS EN EL CRECIMIENTO MUSCULAR DEL LENGUADO CHILENO*:* EFECTO DE LA RESTRICCIÓN NUTRICIONAL Y EL CRECIMIENTO COMPENSATORIO *(*Expression analysis of genes involved in the Chilean flounder muscle growth: Nutritional restriction and compensatory growth effect) **Poblete E.,** Fuentes E., Escobar S., Estrada J.M., Álvarez M., Vera M.I., Molina A. Lab. Biotecnología Molecular, Universidad Andrés Bello, MIFAB. amolina@unab.cl

(130) CONSTRUCCIÓN DE UN VECTOR LENTIVIRAL BICISTRÓNICO BASADO EN LA SECUENCIA 1D/2A DEL VIRUS DE FIEBRE AFTOSA PARA USO EN NEUROBIOLOGÍA (Construction of a bicistronic lentiviral vector based in the 1D/2A secuence of Foot–and-Mouth Disease Virus (FMDV) for use in neurobiology) **Silvia Tapia**, Eduardo Pizarro, Viviana Torres, Sergio Leal*, Craig Garner*, Pedro Zamorano. FACSA, Universidad de Antofagasta, *Stanford University. zamorano@uantof.cl

MARTES 9 DE OCTUBRE 2007

08:00 **Instalación de Paneles: Sesión III N° 131 al N° 194 – Salones Lonquimay y Coñaripe**

09:00 – 10:30 **Comunicaciones Libres VI – Salón Araucanía**
Presidente: Lisette Leyton
Secretario: Miguel L. Concha

E-CADHERIN IS REQUIRED FOR CAVEOLIN-1-MEDIATED DOWN-REGULATION OF THE INHIBITOR OF APOPTOSIS PROTEIN SURVIVIN VIA REDUCED β-CATENIN-Tcf/Lef-DEPENDENT TRANSCRIPTION (Caveolina-1 requiere de E-caderina para regular negativamente a survivina via reducción de la transcripción dependiente de β-catenina-Tcf/Lef). Vicente Torres, Julio Tapia, Diego Rodriguez, Alvaro Lladser, Cristian Arredondo, Lisette Leyton and **Andrew Quest**. FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. aquest@med.uchile.cl

INDUCCION DE FILOPODIAS Y PROCESOS EN LÍNEAS NEURONALES QUE SOBRE-EXPRESAN TRANSPORTADORES DE VITAMINA C (Induction of filopodia and processes outgrowth in neuronal cells lines that overexpress sodium-vitamin C co-transporters) **Katterine Salazar***, Milka Martínez, Francisco Nualart. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción. ksalazar@udec.cl

AUTOANTICUERPOS CONTRA UNA NUEVA PROTEÍNA NEURONAL EN LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO: CORRELACIÓN CON MANIFESTACIONES NEUROPSIQUIÁTRICAS (Autoantibodies against a novel neuronal protein in Systemic Lupus Erythematosus: correlation with neuropsychiatric manifestations) **Bravo-Zehnder Marcela.**[1,4,5], Matus S.[1,4,5], Achurra P.[1], Jarpa E.[1], Calderón J.[2], Babul M.[2], Quintana J.[3], Jacobelli S.[1], González M.[2], Massardo L.[1], González A.[1,4,5]. Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología[1], Departamento de Psiquiatría[2], Departamento de Radiología[3], Facultad Medicina. Centro de Regulación Celular y Patología, J.V. Luco[4]. Pontificia Universidad Católica de Chile y MIFAB[5], Santiago, Chile.

FUNCIÓN DEL HIALURONANO EN LA REGENERACIÓN DE LA COLA DE RENACUAJOS DE *Xenopus laevis* (Role of Hyaluronan in *Xenopus* tail regeneration) **Contreras, Esteban,** Carrasco, H., Sánchez, N., Larraín, J. FONDAP-CRCP, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. eocontre@uc.cl

dPRPK Y SU PAPEL EN EL CRECIMIENTO CELULAR EN *Drosophila melanogaster* (dPRPK and its role in cell growth in *Drosophila melanogaster*) **Consuelo Ibar[2]**, Patricio Olguín[1] y Álvaro Glavic[1]. CGC, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile[1]. Programa de Doctorado en Ciencias BMCYN, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile[2]. alglavic@uchile.cl

¿ES LA GASTRULACIÓN DE PECES ANUALES COMO LA DEL POLLO? (Does annual fish gastrulate like a chick?) **Pereiro Luisa**, Loosli F.[1], Wittbrodt J.[1], Fernandez J.[2], Concha M.L. Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [1]EMBL, Heidelberg, Germany, [2]Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. lpereiro@med.uchile.cl - mconcha@med.uchile.cl

10:30 – 11:30 **Café – Presentación Empresas – Visita Paneles: Salones Lonquimay y Coñaripe**

11:30 – 13:00 **SIMPOSIO NUCLEO MILENIO DE INMUNOLOGIA E INMUNOTERAPIA, P. UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE**
Salón Araucanía
CIRCUITOS MOLECULARES QUE REGULAN LA FUNCION DE CELULAS INMUNES
Moderador: Alexis M. Kalergis

CONTROL OF PERIPHERAL TOLERANCE BY REGULATORY T CELLS
Randolph J. Noelle, Department of Microbiology and Immunology. Dartmouth Medical School, USA.

TARGETING CELLULAR REGULATORY CHECKPOINTS FOR THE GENERATION OF EFFICACIOUS ANTI-TUMOR RESPONSES.
Sergio A. Quezada, Howard Hughes Medical Institute, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center and Nucleo Milenio en Inmunologia e Inmunoterapia.

INTERACCIONES MOLECULARES EN LA SINAPSIS INMUNOLÓGICA QUE MANTIENEN EL EQUILIBRIO ENTRE INMUNIDAD Y AUTOINMUNIDAD.
Alexis M. Kalergis, Núcleo Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

13:00 – 14:30 **Almuerzo**

14:30 – 15:30 **Comunicaciones Libres VII – Salón Araucanía**
Presidente: Juan Pablo Henríquez
Secretario: Lee Meisel

REGULACIÓN DE LA ENZIMA METIONINA SULFÓXIDO REDUCTASA Y SU PARTICIPACIÓN EN LONGEVIDAD (Methionine sulfoxide reductase regulation and its role in life spand) **[1]Aldunate Rebeca,** [2]Minniti A, [1]Cataldo, R., [1]Vasquez, L., [2]Inestrosa, N.C. y [1]Leighton F. [1]Laboratorio de Nutrición Molecular y [2]Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

PARTICIPACIÓN DE HIERRO/·OH Y RyR EN LA GENERACIÓN DE SEÑALES DE Ca^{2+} QUE MEDIAN LA ADQUISICIÓN/CONSOLIDACIÓN DE MEMORIA ESPACIAL EN LA RATA (Participation of Iron/·OH and RyR in the calcium signals involved in the spatial memory) **Haeger, Paola**[1], Humeres, A[1], Núñez, MT[2] e Hidalgo, C[1]. [1]FONDAP-CEMC, Facultad de Medicina, [2] Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. phaeger@med.uchile.cl

EL METABOLITO DE ESTRÓGENO 2-METOXIESTRADIOL REDUCE LOS NIVELES DEL FACTOR TISULAR Y EL POTENCIAL INVASIVO DE LAS CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA (The estrogen metabolite 2-methoxiestradiol reduces tissue factor levels and the invasive potential of breast cancer cells) **Marisol Quezada** y G.I. Owen. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

ADAPTINA ε DE *Arabidopsis thaliana*, UN COMPONENTE DEL PUTATIVO COMPLEJO AP-4, PRESENTE EN MAMÍFEROS, SE ACUMULA PREFERENTEMENTE EN ETAPAS TEMPRANAS DE LA DIVISIÓN CELULAR (ε Adaptin of *Arabidopsis thaliana*, a possible component of AP-4 mammalian complex, is acummulated in early stages of plant cell division) **Daniela C. Urbina** y Lee Meisel. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal y Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Nacional Andrés Bello. daniurbina@gmail.com

15:30 – 16:30 **Café – Presentación Empresas – Visita Paneles: Salones Lonquimay y Coñaripe**

16:30 – 17:30 **Conferencia "Dr. Luis Izquierdo Fernández"**
Salón Araucanía
Presenta: Felipe Barros
LA CIENCIA COMO HERRAMIENTA PARA LA VIDA: EL PROGRAMA DE EDUCACION EN CIENCIAS BASADA EN LA INDAGACION
Rosa Deves. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

17:30 – 21:30 **Reunión de Socios – Termas de Huife**

20:30 **Cena**

22:00 – 23:30 **Presentación de Paneles - Sesión III (N° 131 al N° 194)**
Salones Lonquimay y Coñaripe
Coordinadores: Marcela Bravo – Martín Montecino – Paulette Conget

(131) ESTUDIO DEL POTENCIAL OSTEOGÉNICO DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS DE LA MÉDULA ÓSEA OBTENIDAS DE MUJERES POSTMENOPÁUSICAS: EXPRESIÓN DE Runx2 Y DE MARCADORES DE DIFERENCIACIÓN OSTEOGÉNICOS (Study of the osteogenic potential of mesenchymal stem cells from bone marrow of postmenopausal women: expression of Runx2 and osteogenic markers) **Pablo Astudillo**, Susana Ríos, Luis Pastenes, Jazmine Zheng, Ana María Pino, Patricio Smith y Juan Pablo Rodríguez. Laboratorio de Biología Celular, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. pastudillo@inta.cl

(132) ANALISIS DE INICIO DE TRANSCRIPCIÓN EN ONCOGENES EN LA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER DE MAMA ZR-75-1 (Analysis of oncogene transcription start sites in the breast cancer cell line ZR-75-1) **Bravo, ML.,** Pinto, MA., Owen GI. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. mlbravo@uc.cl

(133) IGF-1 ACTIVA A NADPH OXIDASA EN CARDIOMIOCITO (IGF-1 promotes NADPH oxidase in cardiomyocytes) **José Luis Bucarey[1,2],** Rafaela Erices[1,2], Juan Pablo Muñoz[1], Cecilia Hidalgo[1], Sergio Lavandero[1]. [1]Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile y [2]Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso.

(134) TRANSPLANTE *IN UTERO* DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS (MSC) ALOGÉNICAS CURA A PACIENTES CON OSTEOGENESIS IMPERFECTA (OI) (Allogeneic MSC *in utero* transplantation cures OI patients) Masami Yamamoto[1,2], Carolina Allers[3], Alvaro Insunza[1,2], Enrique Testart[2], Timoleón Anguita[2], Cecilia Götherström[4], Katarina Le Blanc[4], **Paulette Conget[3].** [1]Hospital Padre Hurtado. [2]Clínica Alemana. [3]Instituto de Ciencias, Facultad de Medicina Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo. [4]Instituto Karolinska. pconget@udd.cl

(135) REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE MEGALINA POR LOS RECEPTORES NUCLEARES FXR Y PPARγ Y SU IMPLICANCIA EN PATOLOGÍA BILIAR (Regulation of Megalin by the nuclear factors FXR and PPARγ and its implication in gallstones disease) Zúñiga S.[1], **Díaz D.**[1], Ramos B.[1], Arrese M.[2], Miquel JF.[2], Marzolo MP.[1] [(1)]Centro FONDAP CRCP, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC. [(2)]Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, PUC. szuniga@med.puc.cl

(136) MICROAMBIENTE OSTEOCLASTOGENICO EN ESTROMAS DE MEDULA OSEA DE PACIENTES CON MIELOMA MULTIPLE (Osteoclastogenic microenvironment in bone marrow stroma from multiple myeloma patients) **Figueroa P,** Astudillo P, Flores A, Rodríguez JP, Alarcón G, Fernández M. Biología Celular, INTA, Universidad de Chile. mfernand@inta.cl

(137) REGULACION DEL PROMOTOR DEL GEN RUNX2 DURANTE EL CICLO CELULAR EN PRE-OSTEOBLASTOS (RUNX2 promoter regulation during pre-osteoblast cell cycle) **Mario Galindo[1]**, Nelson Varela[1], Tripti Gaur[2], Christopher Lengner[2], Jane Lian[2], Janet Stein[2], Gary Stein[2], Andre van Wijnen[2]. [1]Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [2]Department of Cell Biology and Cancer Center, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, USA.

(138) CALCINEURIN B OF *Trypanosoma cruzi* IS INVOLVED IN CELL INVASION (Calcineurina B de *Trypanosoma cruzi* participa en la invasión celular) Jorge. E. Araya[1], Alberto Cornejo[1], Patricio Orrego[1], Esteban M. Cordero[1] Mauro Cortez[1], Sergio Rodriguez[1], Héctor Olivares[1], Iván Neira[1], Hernán Sagua[1], José Franco da Silveira[2], Nobuko Yoshida[2] and **Jorge González[1]** [1]Parasitology Unit, University of Antofagasta, Chile and [2]Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, UNIFESP, SP, Brasil. jearayar@uantof.cl

(139) LA RE-INCORPORACIÓN DE CAVEOLINA-1 EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA, NO REDUCE EL POTENCIAL INVASIVO DEPENDIENTE DE FACTOR TISULAR (The re-corporation of caveolin-1 does not reduce the tissue factor-dependent invasive potential of breast cancer cells) **Soledad Henriquez Barrera**, Andrew F. Quest y Gareth I. Owen. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. soledadhenriquez@yahoo.es

(140) 2-METOXIESTRADIOL INDUCE APOPTOSIS EN CÁNCER DE OVARIO A TRAVÉS DE VÍAS DEPENDIENTES E INDEPENDIENTES DE CASPASAS (2-methoxyestradiol induce apoptosis in ovarian cáncer by caspase-dependent an independent pathways) **Kato S.,** Sadarangani A., Lange S., Jaque M., Owen G., Cuello M. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. skato@med.puc.cl

(141) CAVEOLIN-1 FUNCTIONS BOTH AS A TUMOR SUPPRESSOR AND PROMOTER OF METASTASIS IN MELANOMA CELLS (Caveolina-1 funciona como un supresor de tumores y promueve metástasis en células de melanoma) **Lorena Lobos-González**, Lorena Aguilar, Vicente Torres, Alvaro Lladser, Lisette Leyton, Andrew FG Quest. FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. aquest@med.uchile.cl

(142) ANGIOTENSINA II REGULA EL COMPORTAMIENTO DEL MIOFIBROBLASTO CARDIACO QUE SOBREEXPRESA RECEPTORES AT1 (Angiotensin II regulates the behaviour of cardiac miofibroblast overexpressing AT1) **Francisca Mateluna**, Raúl Vivar-Sánchez, Sergio Lavandero, Guillermo Diaz-Araya. Centro FONDAP-CEMC. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. pancha_m@yahoo.es

(143) LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR B_1 DE CININAS INDUCE PROLIFERACIÓN EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA (Activation of the kinin B_1 receptor induces proliferation of breast cancer cells) **Molina L,** Pavicic MF, Matus CE, Ehrenfeld P, Figueroa CD. Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

(144) EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS PROAPOPTOTICAS INDUCIDAS POR ETOPOSIDE EN TESTÍCULO DE RATAS PREPÚBERES (Expresion of proapoptotic proteins induced by etoposide in prepuberal rats testis) **Rina Ortiz** y Ricardo D. Moreno. Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad católica de Chile, Santiago. riortiz@puc.cl

(145) EL ESTRÓGENO Y TAMOXIFENO MODULAN EL ESTADO FUNCIONAL DE CANALES FORMADOS POR CONEXINAS EN CELULAS ZR-75-1, UNA LÍNEA CELULAR DERIVADA DE CÁNCER DE MAMA HUMANO (Estrogen and tamoxifen modulation of the functional state of connexin-based channels in ZR-75-1, a cell line derived from human breast cancer) **Nicolás Palacios-Prado,** Kurt Schalper, Gareth Owen, Juan C. Sáez. Pontificia Universidad Católica de Chile. nypalaci@puc.cl

(146) EFECTO DEL COBRE SOBRE LAS REDES TRANSCRIPCIONALES DE GENES VINCULADOS AL METABOLISMO DE METALES EN CÉLULAS HepG2 (Copper effect over the transcriptional networks of genes related in the metal metabolism in HepG2 cells) **Pulgar R.,** Olivares F., Suazo M., González M. Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA-Universidad de Chile. rpulgar@gmail.com

(147) LA PROTEÍNA SORTING NEXINA 17 (SNX17) PARTICIPA EN LA DISTRIBUCIÓN POLARIZADA DEL RECEPTOR ASOCIADO AL RECEPTOR DE LDL (LRP1) (Sorting Nexin 17 (SNX17) participates in LRP1 polarized distribution) **Claudio E. Retamal**, Maribel Donoso, Pablo Sotelo, Guojun Bu* y María Paz Marzolo. Depto. Biología Celular y Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) Pontificia Universidad Católica de Chile, MIFAB. * WUSTL, USA. claudio.retamal@gmail.com

(148) ETANOL ACTIVA A LA PROTEÍNA Gαs EN MEMBRANAS DE CEREBRO DE RATA (Etanol activates Gs alpha protein in rat brain membranes). [1,2]**Romo, X.,** [1]Zepeda, P., [1]Vidal, P., [1]Aguayo, L.G. [1]Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. [2]Facultad de Medicina, Universidad Católica de la Santísima Concepción. xromo@ucsc.cl

(149) INHIBICION METABOLICA AUMENTA LA ACTIVIDAD DE HEMICANALES EN LA SUPERFICIE DE CELULAS HeLa TRANSFECTADAS CON LA CONEXINA 32 (Metabolic inhibition increases the activity of hemichannels in the surface of HeLa cells transfected with connexin32) **Helmuth A.[1]Sánchez**, Vitautas K.[2]Verselis, y Juan C. [1]Sáez. [1]Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago-Chile y [2]Department of Neurosciences, Albert Einstein College of Medicine, Bronx-NY, EEUU. hasanche@puc.cl

(150) EFECTO DE LEPTOMICINA B SOBRE LA DISTRIBUCIÓN SUBCELULAR DE FRUCTOSA-1,6-BIFOSFATASA Y FRUCTOSA-1,6-BIFOSFATO ALDOLASA (Effect of leptomycin B on subcellular distribution of FBPase and aldolase) **Spichiger, C.,** Yáñez, A.J. y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. cspichiger@yahoo.com

(151) PRIVACIÓN DE GLUCOSA ACTIVA LA AUTOFAGIA MEDIADA POR CHAPERONAS EN CARDIOMIOCITOS (Glucose deprivation stimulates chaperone-mediated autophagy in cardiac myocyte) **Barbra Toro[1]**, Andrea Rodríguez[1], Ana Cuervo[2], Sergio Lavandero[1]. [1]Centro FONDAP CEMC, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile y [2]Albert Einstein College of Medicine. barbra_toro@yahoo.es

(152) RELEVANCIA DE LOS RESIDUOS DE SERINA 477 Y 481 DEL EXTREMO CARBOXILO-TERMINAL DEL RECEPTOR DE HDL SR-BI EN SU DISTRIBUCIÓN SUBCELULAR Y FUNCIONALIDAD EN CÉLULAS HEPÁTICAS (Relevance of the carboxy-terminal Serine 477 and 481 residues of the HDL receptor SR-BI in its subcelullar distribution and function in liver cells) **Dania Valdovinos[1],** Verónica Quiñones[1], Andrea Leiva[1], Ludwig Amigo[1], Silvana Zanlungo[1], María Paz Marzolo[2] y Attilio Rigotti[1]. [1]Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina y [2]Centro de Regulación Celular y Patología y MIFAB, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas; Pontificia Universidad Católica. dvaldovi@gmail.com

(153) OLIGOMERIZACIÓN EN LA FAMILIA DE RECEPTORES DE VASOPRESINA (Oligomerization in the rat vasopressin receptor family) **Villanueva, C.I.**[#], Sarmiento, J.M.[#], Añazco, C.C.[#], Navarro J.[&], González C.B[#]. [#]Instituto de Fisiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. [&]Department of Neuroscience and Cell Biology, University of Texas Medical Branch. carolinavillanueva@uach.cl

(154) EFECTO DE TRIPTASA SOBRE LA PROLIFERACIÓN DE FIBROBLASTOS DE LA MUCOSA BUCAL IRRADIADOS CON LUZ UVB (Tryptase increases proliferation of oral mucosa fibroblasts exposed to UVB-irradiation) **R Yefi[1,2],** Y Boza[1], MI Rudoplh[3], IG Rojas[1]. Facultades de Odontología[1], Farmacia[2] y Cs. Biológicas[3], Universidad de Concepción. grojas@udec.cl (Patrocinio: S. Gutiérrez)

(155) MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA HEXOQUINASA EN CÉLULAS INDIVIDUALES CON ALTA RESOLUCIÓN TEMPORAL (Measurement of single-cell hexokinase activity with high temporal resolution) **Carla X. Bittner[1,2],** Valeria Larenas[1,2], Wolf Frommer[3], L. Felipe Barros[1]. [1]Centro de Estudios Científicos, Valdivia, [2]Universidad Austral de Chile y [3]Carnegie Institution, San Diego, USA. cxbittner@cecs.cl

(156) EL RECEPTOR DE RYANODINA, MEDIANTE MODIFICACIÓN REDOX, PARTICIPA EN LA SECRECIÓN DE INSULINA EN CÉLULAS β PANCREÁTICAS (Ryanodine receptor through redox modification participes in insulin secretion from pancreatic β cells) **Llanos P.,** Hidalgo C., Mears D. Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula e ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. pllanos@med.uchile.cl

(157) TRANSPORTE DE ADENOSINA EN CÉLULAS PROGENITORAS DE ENDOTELIO (Adenosine transport in endothelial progenitor cells) [1]Guzmán, E., [1]Sandoval, C., [1]Nova, E., [1]Saerle, A., [2]Vera, J.C., [2]Rivas, C., [1]Duran, D., [3]Sobrevia, L., [1]Lamperti, L. y **[1]Aguayo, C.** [1]Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Fac. de Farmacia. [2]Dpto.Fisiopatología, Fac. Cs Biológicas. Universidad de Concepción. [3] Lab. Fisiología Celular y Molecular (CMPL), CIM, Dpto. Obstetricia y Ginecología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. caguayo@udec.cl

(158) REGULACIÓN DE MMP-2 (GELATINASA A) POR CTGF Y SU RELACIÓN CON FIBROSIS (Regulation of MMP-2 by CTGF and its relationship with fibrosis) **Droppelmann, C.A.,** Mezzano, V. y Brandan, E. Laboratorio de Diferenciación Celular y Patología CRCP, MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. cristiandroppelmann@gmail.com

(159) INSULINA ESTIMULA INCORPORACIÓN DE GLUCOSA POR LIBERACIÓN DE Ca^{2+} (Insulin stimulates glucose uptake by Ca^{2+} release) **Ariel Contreras**[1], Amira Klip[2], Naria Oyanedel[1], Enrique Jaimovich[1], Sergio Lavandero[1]. [1]FONDAP CEMC. Facultades Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Medicina, Universidad de Chile. [2]The Hospital for Sick Children, University of Toronto, Canada. arielfbq@ciq.uchile.cl

(160) ALTERACIÓN DE LA TERMOGÉNESIS ADAPTATIVA EN RATONES DEFICIENTES EN FXR (Impaired adaptive thermogenesis in FXR-deficient mice) **Daniel Duran-Sandoval**[1,2], Bertrand Cariou[2], Emmanuel Bouchaert[2], Mouaadh Abdelkarim[2], Julie Dumont[2], Sandrine Caron[2], Gérard Torpier[2], Jean-Charles Fruchart[2], Folkert Kuipers[3], Remy Burcelin[4] and Bart Staels[2]. [1]Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile. [2]Institut Pasteur de Lille, Inserm, U545, Université de Lille 2, France. [3]CLDM, Laboratory of Pediatrics, University-Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands. [4]CNRS-UMR 5018, Université Paul Sabatier, Hopital Rangueil, France. dduran@udec.cl (Patrocinio: J.C. Vera)

(161) TRANSPORTADORES DE VITAMINA C EN CULTIVO PRIMARIO DE CÉLULAS DE SERTOLI (Vitamin C transporters in Sertoli cells primary cultures) **Rodrigo Maldonado**, Constanza Angulo, Maite Castro, Marco A. Maureira, Alejandro Yañez, Juan Carlos Slebe, Ilona I. Concha. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. conchagrabinger@uach.cl

(162) AtUTr1 Y AtUTr3 SON TRANSPORTADORES DE UDP-GLUCOSA QUE RESPONDEN A ESTÍMULOS QUE INDUCEN ESTRÉS EN EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO (AtUTr1 and AtUTr3 are UDP-Glucose transporters that respond to stress in the endoplasmic reticulum) Francisca Reyes, Gabriel León y **Ariel Orellana**. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello. aorellana@unab.cl

(163) TRICLOSÁN INHIBE LA PRODUCCIÓN DE UROQUINASA ESTIMULADA POR TNF-α EN FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS (Triclosan inhibits TNF-α-stimulated urokinase production in human gingival fibroblasts) **Arancibia R[1],** Cáceres M[1], Martínez J[1], Gonzalez R[1], Smith PC[2]. INTA[1] y Facultad de Odontología[2], Universidad de Chile. Rodrigo.Arancibia@bioquimica.cl

(164) LOS NIVELES DE CONEXINA43 AUMENTAN EN FIBRAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS RECIÉN AISLADAS, PROCESO BLOQUEADO POR IL-6 (Levels of connexin43 increase in freshly isolated skeletal muscle fibers, process inhibited by IL-6) **Luis A. Cea**, Manuel A. Riquelme, Juan C. Sáez. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. lacea@puc.cl

(165) EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE LOS LIGANDOS DE NOTCH EN CÉLULAS DENDRÍTICAS (Differential expression of Notch ligands on dendritic cells) **Pablo Espejo[1]**, Daniela Sauma[1], Mario Rosemblatt[1,2], María Rosa Bono[1]. [1]Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, U. de Chile. [2]Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB y U. Andrés Bello. pabloespejo80@gmail.com

(166) LA POTENCIACIÓN EN LA PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS BACTERIANOS INDUCIDA POR COMPLEJOS INMUNES REQUIERE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR FcγRIII EN CÉLULAS DENDRÍTICAS (Immune complex-induced enhancement of bacterial antigen presentation requires Fcγ Receptor III expression on dendritic cells) **Andrés Herrada[1]**, Francisco Contreras[1], Jaime Tobar[1], Rodrigo Pacheco[1] y Alexis M. Kalergis[1,2]. [1]Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile. akalergis@bio.puc.cl

(167) MODULACIÓN *IN VITRO* POR ANTICUERPOS DE LA INTERACCIÓN CALRETICULINA DE *Trypanosoma cruzi*/C1q DEL COMPLEMENTO HUMANO (*In vitro* modulation by antibodies of the *Trypanosoma cruzi* calreticulin/human C1q complement component) **Galia Ramírez**[1], Carolina Valck[1], Lorena Aguilar[1], Nandy López[1], Carolina Ribeiro, Viviana Ferreira[2], Arturo Ferreira[1]. [1]Programa de Disciplinario de Inmunologia, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile, [2]Department of Biochemistry, Center for Biomedical Research, University of Texas, Health Science Center, Tyler, TX, United States. galiaram@uchile.cl

(168) LA VIDA MEDIA DE INTERACCIÓN TCR:pMHC MODULA LA ACTIVACIÓN DIFERENCIAL DE MAPKs Y LA ACTIVIDAD EFECTORA DE CÉLULAS T CD8$^+$ CITOTÓXICAS (The half-life of TCR:pMHC interaction modulates the differential activation of MAPKs and effector response of cytotoxic CD8$^+$ T cells) **Erick Riquelme[1]**, Rodrigo Pacheco[1], Leandro Carreño[1] y Alexis M. Kalergis[1,2]. [1]Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile. akalergis@bio.puc.cl

(169) LINFOCITOS T REGULADORES AFECTAN EL RESULTADO DE LA TERAPIA CELULAR BASADA EN CÉLULAS DENDRÍTICAS EN PACIENTES CON MELANOMA (Regulatory T cells affect the DC-mediated immunotherapy outcome in melanoma patients) **Gabriela Segal**, Mercedes López, Alexandra Ginesta, Flavio Salazar-Onfray. Universidad de Chile, ICBM, Laboratorio Inmunología Antitumoral.

(170) EXPRESIÓN DE UROQUINASA Y SU RECEPTOR (uPAR) EN PLAQUETAS HUMANAS: EVENTUAL PAPEL EN LA FIBRINOLISIS (Expression of urokinase and its receptor (uPAR) in human platelets: its possible role in fibrinolysis) **Torres, E.,** Sáez CG., Matus V., Panes O. y Mezzano, D. Dpto. Hematología-Oncología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. evorytorres@gmail.com (Patrocinio: E.O. Campos)

(171) ROL DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN Wnt NO-CANÓNICA EN LA MORFOGÉNESIS DE ESPINAS DENDRÍTICAS (Role of non-canonical Wnt signaling in dendritic spine morphogenesis) **Iván Alfaro,** Daniel Karmelic y Nibaldo C. Inestrosa. Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología y MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. ialfaro@puc.cl.

(172) MODIFICACIÓN MOLECULAR DE N-CADHERINA SINÁPTICA INDUCIDA POR LA ACTIVACIÓN DE LA VÍA WNT EN NEURONAS DE HIPOCAMPO (Molecular modification in synaptic N-cadherin induced by Wnt signalling activation in hippocampal neurons) **Sebastián W. Belmar,** Marcela Colombres y Nibaldo C. Inestrosa. Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Instituto Milenio MIFAB y Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. ninestrosa@bio.puc.cl

(173) EL RECEPTOR FRIZZLED-1 MEDIA LA PROTECCIÓN DEL LIGANDO WNT3A DE LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR Aβ EN CÉLULAS PC12 Y NEURONAS DE HIPOCAMPO (Frizzled-1 mediates the protective effect of Wnt3a against the toxicity of Aβ in PC12 cells and hippocampal neurons) **Marcelo A. Chacón** e Inestrosa N.C. Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP) y MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. mchacon@bio.puc.cl

(174) INVOLVEMENT AND INTERPLAY OF GLUTAMATE AND $GABA_A$ RECEPTORS IN β-AMYLOID PEPTIDE TOXICITY. Paula-Lima, A.C.[1,3], Brito-Moreira, J.[1], Almeida, V.[1], Panizzutti, R.A.[2], Ferreira, S.T.[1]. [1]Instituto de Bioquímica Médica and [2]Departamento de Anatomia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil; [3]Centro Fondap de Estudios Moleculares de la Célula, F. Medicina, U. Chile. (Patrocinio: C. Hidalgo)

(175) ROL DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE SONIC HEDGEHOG (Shh) EN EL DESARROLLO DEL FENOTIPO NEURONAL DOPAMINÉRGICO EN EL CEREBRO MEDIO: PROLIFERACIÓN O ESPECIFICACIÓN DE PROGENITORES? (Role of the Shh signalling pathway in the development of the midbrain dopaminergic neuronal phenotype: Proliferation or specification of progenitors?) Gustavo Cerda[†], Gisela Reinchisi[†], Ariadna Mendoza-Naranjo[¥], Cristián Pereda[¥], **Claudio Cortés**[†] y Verónica Palma[†]. [†]Center for Genomics of the Cell, Laboratorio de Biología del Desarrollo, Fac. de Ciencias. [¥]Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Fac. de Medicina, División Ciencias Médicas. U. de Chile. gustafro@gmail.com

(176) ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS EN NEURONAS COLINÉRGICAS SEPTALES EN LA ENFERMEDAD DE NIEMANN-PICK TIPO C (NPC) (Cholinergic abnormalities in the brain of NPC-/- mice) **Figueroa AD[1]**, Lazo OM[1], Klein A[2,3], Alvarez AR[2], Zanlungo S[3], Bronfman FC[1]. [1]Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología (CRCP), Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. [3]Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. adfigueq@uc.cl

(177) EL KNOCK-DOWN DE IRP1 PROTEGE A CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA DE LA MUERTE CELULAR (IRP1 Knock-Down protects neuroblastoma cells from cell death) **Natalia Mena,** Enrique Armijo, Daniel Borquez and Marco T. Núñez. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile & Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnnlogía, Santiago, Chile. mnunez@uchile.cl

(178) CORRELACIÓN ENTRE LA MEMORIA ESPACIAL Y EXPRESIÓN DE C-JUN Y C-FOS EN RATAS GESTADAS EN MADRES HIPOTIROXINÉMICAS (Correlation of spatial memory with the expression of c-Jun and c-Fos in rats gestated in hypothyroxinemic mothers) **Opazo C**., Alarcón L., Lizana R., Mora S, Riedel C. Universidad Andrés Bello.

(179) DETERMINANTES CELULARES Y MOLECULARES DE LA INTERNALIZACIÓN DEL RECEPTOR DE NEUROTROFINAS p75 (Cellular and molecular determinants of p75 neurotrophin receptor internalization) **José I Parraguez**[1], Claudia A Escudero[1], Fernanda Lisbona[1], M. Paz Marzolo[2], Francisca C Bronfman[1]. Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología (FONDAP), [1]Departamento de Fisiología, [2]Departamento de Biología Celular y Molecular. Pontificia Universidad Católica de Chile.

(180) REGULACIÓN OPUESTA DE HEMICANALES Y CANALES DE UNIONES EN HENDIDURA EN ASTROCITOS CORTICALES DE RATONES NPC1 (Opposite regulation of hemichannels and gap junction channel in mouse NPC1 cortical astrocytes) **Pablo J. Sáez*[¶],** Natalia Vega*, Manuel Riquelme*, Andrés Klein[&], Silvana Zanlungo[&], Juan C. Sáez*. [¶]Departamento de Ciencias Fisiológicas*, Departamento de Gastroenterología[&], Pontificia Universidad Católica de Chile. pjsaez@uc.cl

(181) CORRELACIÓN DE ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL CON ESTADO DE ACETILACIÓN DE ELEMENTOS REGULADORES DE LA FAMILIA DE GENES *IROQUOIS* (Correlation of transcriptional activity with acetylation in regulatory elements of the iroquois gene family) **Pablo Cabrera[1]**, Carmen G Feijóo[1, 2], José Luis Gomez-Skármeta[3], Miguel L Allende[1]. [1]CGC, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile,-[2]Universidad Andrés Bello, [3]Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España. awkanes@gmail.com

(182) ANÁLISIS CUANTITATIVO DE COMPACTACIÓN CELULAR DURANTE LA GASTRULACIÓN EN *Cynolebias* Y LA MORFOGÉNESIS ASIMÉTRICA DEL ÓRGANO PARAPINEAL EN *Danio rerio* (Quantitative analysis of cellular compaction during gastrulation in *Cynolebias* and asymmetric morphogenesis of the parapineal organ in *Danio rerio*) **Covacevich Y.,** Pereiro, L., Lemus C.G., Concha M.L., Härtel S. Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ycovacev@dcc.uchile.cl

(183) IDENTIFICACIÓN DE GENES TEMPORAL Y ESPACIALMENTE REGULADOS EN EMBRIONES DE *Drosophila* (Identification of genes temporally and spatially regulated in *Drosophila* embryos) **Patricia Hanna**, Alejandro Zúñiga, Christian Hödar y Verónica Cambiazo. Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica INTA-Universidad de Chile & Center for Genomics of the Cell (CGC). patricia.hanna@gmail.com

(184) EFECTO DE LA DISRUPCIÓN DE LOS GENES *kal1a, kal1b, fgfr1* Y *pkr2* EN EL DESARROLLO DE LAS CÉLULAS ENDOCRINAS LIBERADORAS DE HORMONA GONADOTROPINA (GnRH) (Effects of the disruption of *kal1a, kal1b, fgfr1* y *pkr2* genes in the development of endocrine GnRH cells) **Joaquín Letelier**, J.Astudillo, F.Araya y K.Whitlock. CNV, Universidad de Valparaíso. jletelier@cnv.cl

(185) ESTUDIO DEL PATRÓN DE EXPRESIÓN DEL GEN RIC8 DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN *Xenopus* (Expression pattern study of the gene Ric8 during *Xenopus* embryo development) **Maldonado R.,** Bertín A, Leniz I., Izaurieta P., Hinrich M.V., Torrejón M. y Olate J. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción. jolate@udec.cl

(186) IDENTIFICACIÓN DE GENES REGULADOS POR REST/NRSF EN EL ECTODERMO DE *Xenopus laveis*. Andro Montoya, Lorena Santa María, Manuel Kukuljan. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. kukuljan@neuro.med.uchile.cl

(187) EXPRESIÓN DE GENES CARDÍACOS POR HIPOXIA Y LA ACTIVACIÓN DE hif-1α (Cardiac gene expression by hypoxia and the activation of hif-1α) **Juan A. Ulloa[2],** Ariel E. Reyes[1]. [1]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. [2]Doctorado en Biociencias Moleculares, Universidad Andrés Bello. ariel.reyes@ udp.cl

(188) PARTICIPACIÓN DE Sox2 EN LA REGULACIÓN DEL NÚMERO DE CÉLULAS Y ESTADO DE DIFERENCIACIÓN EN EL PRIMORDIO DE LA LÍNEA LATERAL DEL PEZ CEBRA (Participation of Sox2 in the regulation of the cell number and differentiation state in the lateral line primordium of zebrafish) **Cristian Undurraga**, Pedro Hernández, Francisco Olivari, Pablo Sandoval y Miguel Allende. CGC, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

(189) LA EXPRESIÓN DE RhoGEF3, UN POTENCIAL REGULADOR DEL CITOESQUELETO DE ACTINA, ES TEMPORAL Y ESPACIALMENTE RESTRINGIDA DURANTE EL DESARROLLO DE *Drosophila* (Developmentally restricted expression pattern of RhoGEF3, a potential regulator of *Drosophila* actin cytoskeleton) **Alejandro Zúñiga**, Verónica Cambiazo. Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica INTA-Universidad de Chile & Center for Genomics of the Cell (CGC). jano@inta.cl

(190) DIVERSIDAD NUCLEOTÍDICA EN GENES CANDIDATOS INVOLUCRADOS EN EL CONTROL GENÉTICO DE CALIDAD DE MADERA EN *Pinus pinaster* (Nucleotide diversity in candidate genes involved in the genetic control of wood quality in *Pinus pinaster)* **Cancino, L.**[1,2]; Lepoittevin, C[2]; Plomion, C[2] y Herrera, R[1]. 1. IBVB, UTalca, Chile & 2. INRA, Francia. lcancino@utalca.cl

(191) FORMACIÓN *IN VITRO* DE UN CARTÍLAGO ESTRUCTURADO PARA LA REGENERACIÓN DE LESIONES OSTEOCONDRALES (*In vitro* formation of a structured cartilage for the regeneration of osteochondral lesions) **Jaramillo, P**., *Montoya, F., García, M.A., Nualart, F. Departamento de Biología Celular, *Departamento de Cirugía, Universidad de Concepción, Concepción.

(192) GENERACIÓN DE UN MODELO MURINO INDUCIBLE PARA *Rai1* (Generation an inducible mouse model for Rai1) **Jessica Molina**[(a,b)], Paulina Carmona[(a,b)], Juan Young[(a)], Katherina Walz[(a)]. (a) Centro de Estudios Científicos; (b) Universidad Austral de Chile.

(193) ESTUDIO DEL FENOTIPO REPRODUCTIVO DE RATONES MACHO DEFICIENTES EN NPC2 (Studies on the reproductive phenotype of NPC2-deficient male mice) **Oñate-Alvarado, M.J.**[1], Busso, D.[1], Morales, M.G.[2], Moreno, R.D.[1], Zanlungo, S.[2]. [1]Facultad de Ciencias Biológicas y [2]Facultad de Medicina, P. U. Católica de Chile, Santiago. dbusso@bio.puc.cl

(194) CONSTRUCCIÓN DE UN SENSOR DE pH EXTRACELULAR (pH_e) CODIFICADO GENÉTICAMENTE (Construction of a genetically encoded extracellular pH sensor) **Moisés Sandoval[(1,2)],** Javier Urra[(1)], Francisco V. Sepúlveda[(1)] y Pablo Cid[(1)]. Centro de Estudios Científicos CECS [(1)]. Universidad Austral de Chile [(2)]. pcid@cecs.cl

MIERCOLES 10 DE OCTUBRE 2007

09:00 – 10:30 **Comunicaciones Libres VIII – Salón Araucanía**
Presidente: Marcela Hermoso
Secretario: Carlos González

GALECTINA-8 Y AUTOANTICUERPOS ANTI-GAL-8 BLOQUEANTES MODULAN LA APOPTOSIS EN LINFOCITOS T (Galectin-8 and function-blocking autoantibodies against Gal-8 modulate an apoptotic pathway in T cells) **Claudia Metz**[1,2], Andrés Norambuena[2], Antonia Silva[2], Alfonso González[1,2] y Andrea Soza[1,2]. [1]Depto. de Inmunología Clínica y Reumatología, Fac. Medicina, and [2]Centro de Regulación Celular y Patología, Fac. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, and MIFAB, Santiago, Chile. cmetz@med.puc.cl

ESTUDIO DEL DESARROLLO DE LA COMISURA POSTERIOR EN EMBRIONES DE POLLO (Development of the posterior commissure in chick embryos) **Teresa Caprile,** Florencia Márquez, Hernán Montecinos. Dpto. Biología Celular, Universidad de Concepción. tcaprile@udec.cl (Patrocinio: J.P. Henriquez)

SIGNALING FOR Thy-1 ON NEURON-LIKE CELLS (Señalización para Thy-1 en células tipo neuronas). **Rodrigo Herrera-Molina,** Tamara Hermosilla, Darío Vásquez, Andrew FG Quest, María de la Luz Aylwin# and Lisette Leyton*.FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC). #Center for Studies of Integrated Neurosciences. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. *lleyton@med.uchile.cl

DOMINIO DE TRANSMEMBRANA 1 PARTICIPA EN LA OLIGOMERIZACIÓN DE RECEPTORES V2 DE VASOPRESINA (Transmembrane domain 1 mediates oligomerization of V2 vasopressin receptor) **Añazco Carolina C**., Gutiérrez R.E., Sarmiento J.M., González C.B. Laboratorio de Endocrinología Molecular, Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. carolinaanazco@uach.cl

EXPRESIÓN CÉLULA-ESPECIFICA DE MeCP2 SILVESTRE EN RATONES MUTANTES PARA MECP2 (Cell-specific expression of wild-type MeCP2 in mutant mouse models for MeCP2) **Matías Alvarez-Saavedra,** Mauricio A. Sáez, Bredford Kerr, Alexandra Saona y Juan I. Young. Centro de Estudios Científicos, Valdivia, Chile. matiasalvarez@cecs.cl, jyoung@cecs.cl

COORDINACIÓN MOLECULAR DE PROCESAMIENTO ANTIGÉNICO Y MIGRACIÓN EN CÉLULAS DENDRÍTICAS (Molecular coordination of migration and antigen processing in dendritic cells) **Vargas Pablo**[1,2], Faure-André G[2], Guermonprez P[2], Bono M.R. [1], Lennon-Duménil A.M.[2], Rosemblatt M.[3,4]. [(1)]Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Santiago, Chile. [(2)]Institut Curie, INSERM U653, Paris, Francia. [(1,3)]Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB y U. Andrés Bello, Santiago, Chile. pablo.vargas@curie.fr

10:30 – 11:30 **Café – Presentación Empresas – Visita Paneles: Salones Lonquimay y Coñaripe**

11:30 – 13:00 **SIMPOSIO SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE**
Salón Araucanía
NEUROBIOLOGIA Y DESARROLLO
Moderador: Miguel Allende

NEUROENDOCRINE CONTROL OF POSTEMBRYONIC DEVELOPMENT IN THE FRUIT FLY, *Drosophila melanogaster*.
John Ewer, Centro de Neurociencias de Valparaíso, Universidad de Valparaíso, Valparaíso.

DEVELOPMENT OF THE OLFACTORY SENSORY SYSTEM AND ASSOCIATED NEUROENDOCRINE CELLS.
Kathleen E. Whitlock, Centro de Neurociencias de Valparaíso, Universidad de Valparaíso, Valparaíso.

TRANSFERENCIA DE RIBOSOMAS DESDE LA CÉLULA DE SCHWANN AL AXÓN EN NERVIO CIÁTICO
Felipe Court, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

13:00 – 15:00 **Almuerzo**

15:00 – 17:00 **TALLER SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE**
ESTRATEGIAS DE FINANCIAMIENTO Y PERSPECTIVAS PARA LOS BIOLOGOS CELULARES EN EL CHILE DE HOY Y MAÑANA
Coordina: Jorge Martínez W.
Participan:
Cecilia Hidalgo, ICBM, Universidad de Chile
Alexis M. Kalergis, P. Universidad Católica de Chile
Mario Rosemblatt, Fundación Ciencia para la Vida
Miguel O'Ryan, Universidad de Chile

17:00 – 18:00 **Café – Presentación Empresas – Visita Paneles: Salones Lonquimay y Coñaripe**

18:00 – 19:00 **CONFERENCIA SOCIEDAD DE BIOLOGIA CELULAR DE CHILE**
Salón Araucanía
Presenta: Miguel Allende

LA ACELERACION DEL UNIVERSO A LA LUZ DE LAS SUPERNOVAS
Mario Hamuy, Departamento de Astronomía, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile.

19:00 **Entrega de Premios – Salón Araucanía**

Nikon - Ivens:	**Mejores Imágenes en Biología Celular**
HyClone - Genexpress:	**Mejores Trabajos Estudiantes Oral y Panel**

21:00 **Cena**

PROGRAMA BECAS CONICYT

El programa de Becas de Postgrado de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica CONICYT fue creado en el año 1988 con el propósito de brindar apoyo económico a estudiantes de postgrado de Universidades Chilenas, para completar sus estudios y obtener los más altos grados académicos.

Desde entonces y a la fecha, este programa ha abierto distintas posibilidades de estudio y apoyo a los estudiantes de Doctorado y Magíster en Chile y en el extranjero, otorgando recursos para el pago de aranceles universitarios, mantención personal, financiamiento parcial de tesis doctorales, asistencia y participación en congresos y cursos cortos en el extranjero y aquellos organizados por sociedades científicas en Chile.

Actualmente, el programa de becas pretende contribuir al incremento de investigadores y profesionales en áreas prioritarias para el desarrollo del país, apoyando y fortaleciendo la formación de recursos humanos de alto nivel para el avance de las ciencias, tecnologías e innovación. Para ello, entrega beneficios a estudiantes de postgrado en Chile como en el extranjero, a fin de incentivar a quienes han alcanzado excelencia personal, académica y profesional para que obtengan altos grados académicos, y apoyarlos en alcanzar un desempeño destacado en sus programas de estudio.

Para garantizar la calidad de la oferta del Programa de Becas, los beneficios se entregan a programas de estudios de postgrado que se encuentren acreditados en Chile y, en el caso de las becas al extranjero, mediante convenios sostenidos con países y con Universidades de alto prestigio internacional.

En las tablas siguientes se presenta una síntesis de la oferta de becas de CONICYT.

Tipo de Beca	Nombre de la Beca	Beneficiarios	Propósito
Estudios de Postgrado	Beca de Magíster	Estudiantes chilenos y extranjeros en programas acreditados en Chile (CONAP)	Obtener el grado académico de Magíster
	Beca de Doctorado	Estudiantes chilenos y extranjeros en programas acreditados en Chile (CONAP)	Obtener el grado académico de Doctor
Apoyo a Tesis Doctoral	Beca para término de la tesis doctoral	Estudiantes chilenos y extranjeros en programas acreditados en Chile (CONAP) y que sean becarios CONICYT o MECESUP	Finalizar tesis y obtener el grado de doctor.
	Beca de apoyo para la realización de la tesis doctoral	Estudiantes chilenos y extranjeros en programas acreditados en Chile (CONAP) y que sean becarios CONICYT o MECESUP	Cubrir gastos operacionales de la ejecución de la tesis, mediante financiamiento parcial
Complementarias	Asistencia a congresos y cursos cortos en el extranjero	Estudiantes chilenos y extranjeros en programas de Doctorado en Chile acreditados (CONAP)	Participar en congresos en el extranjero en calidad de autor principal
	Participación en congresos o reuniones nacionales de sociedades cient_ficas chilenas	Estudiantes chilenos y extranjeros en programas de Doctorado en Chile acreditados (CONAP)	Participar en eventos donde realicen sus presentaciones

BECAS EN EL EXTRANJERO

Tipo de Beca	Nombre de la Beca	Convenio	Propósito
		Embajada de Francia	Obtener el grado de Doctor en Universidades o "Grandes Ecoles" francesas, para los/las que han sido aceptados/as en Doctorado al final del Master 2 Investigación, para el cual también se otorgan becas
		Fulbright	Obtener el grado de Doctor en áreas científicas y tecnológicas en Universidades estadounidenses en las áreas de ciencia y tecnología con excepción de medicina
		British Council — Cambridge Overseas Trust	Obtener el grado de Doctor en disciplinas correspondientes a Ciencia y Tecnología en la Universidad de Cambridge
		INRIA (Francia)	Obtener el grado de Doctor en Informática y Automática
		Universidad Victoria de Wellington	Obtener el grado de Doctor
		Gestión Propia	Obtener el grado de Doctor, en instituciones de excelencia en el extranjeros, para que a su regreso apliquen sus conocimientos para contribuir al desarrollo científico, académico, económico y social del pa_s
		DAAD	Obtener el grado de Doctor, en instituciones de excelencia en Alemania, para que a su regreso apliquen sus conocimientos para contribuir al desarrollo cient_fico, académico, económico y social del país
		Convenio Universidad de Wageningen, (Holanda) y Aarhus (Dinamarca)	Obtener el grado de Doctor, en campos de la ciencia y tecnología, para que a su regreso apliquen sus conocimientos para contribuir al desarrollo científico y académico del país.
Pasantías	Pasantías doctorales	Fulbright	Ejecutar tesis doctorales en las áreas de las ciencias y desarrollo tecnológico en Universidades de Estados Unidos
	Pasantías tecnológicas	INRIA (Francia)	Lograr conocimientos respecto de una técnica o tecnología específica para el desarrollo de un proyecto
Cotutela	Becas de intercambio académico	Alemania DAAD	Realizar un proyecto de investigación como parte de su tesis doctoral en Alemania

Conferencias

Conferencia Nucleos Milenio: Centro de Neurociencias Integrada y Centro de Genómica Celular

SELF-ASSEMBLY OF THE BRAIN: WATCHING MOLECULES DRIVE A NEURON GO CRAZY, AND FORCING A SYNAPSE TO MEMORIZE AN INCIDENCE.. Akira Chiba, Department of Biology, University of Miami, Coral Gables, Florida, USA

With recent advances in nanotechnology and imaging, today's biology is changing the way it studies cells and molecules, i.e., within their natural contexts. I present two specific examples: (1) Rho GTPase, a versatile signaling molecule, in the context of neuronal differentiation, and (2) mechano-transduction as a 'retrograde' mechanism during synaptic plasticity.

Conferencia Sociedad de Biología Celular de Chile

LA ACELERACIÓN DEL UNIVERSO A LA LUZ DE LAS SUPERNOVAS Mario Hamuy, Departamento de Astronomía, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile.

Uno de los hallazgos más importantes de la astrofísica contemporánea ha sido el descubrimiento en 1998 de la aceleración de la expansión del Universo, un resultado completamente inesperado para un Universo sometido a la ley de la gravedad. Esto implica la existencia de una nueva fuerza fundamental de la naturaleza. La energía responsable de dicha aceleración constituye un 70% de todo el contenido del Universo y parece tener su origen en una energía del espacio vacío. Esta nueva componente del Universo no tiene una explicación en el marco de la física teórica y requerirá de una revolución en la física para comprender su origen. En esta charla describiré las observaciones que condujeron al descubrimiento de la aceleración, particularmente el proyecto Calan/Tololo realizado por el charlista y sus colaboradores entre 1989-1993, el cual aportó la calibración fundamental para la realización de este hallazgo.

Conferencia "Dr. Luis Izquierdo Fernández"

LA CIENCIA COMO HERRAMIENTA PARA LA VIDA: EL PROGRAMA DE EDUCACIÓN EN CIENCIAS BASADA EN LA INDAGACIÓN. **Rosa Deves.** Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El Programa ECBI es una construcción conjunta de científicos y educadores asociados para ofrecer a los niños y niñas chilenos una educación en ciencias de calidad. Nos une la convicción de que la educación científica es un derecho de todos y que el acceso equitativo a ella solo será posible si se realiza un esfuerzo nacional e internacional que convoque muchas voluntades tanto personales como institucionales. Nos hemos propuesto contribuir al cambio y la innovación de la enseñanza y el aprendizaje de las ciencias, desde la construcción de cercanía, complementación y alianzas entre la comunidad científica y el mundo docente y escolar. Reconocemos al mismo tiempo que para alcanzar una renovación efectiva, las estrategias deberán estar fundamentadas en la investigación y estrechamente ligadas a la implementación de la política.

Nuestra visión es que a través de la ciencia bien enseñada, los niños y niñas no sólo podrán avanzar en la comprensión del mundo natural y material, sino que además guiados por sus profesores y profesoras, tendrán oportunidad de experimentar el placer de investigar y descubrir, se apropiarán de las formas de pensamiento que subyacen a la búsqueda científica y desarrollarán formas de convivencia que estimularán la comunicación efectiva, el trabajo en equipo, el respeto por las ideas del otro y el cuidado de la naturaleza.

En esta presentación se describe el Programa ECBI colocando énfasis en los principios y las estrategias que han orientado su creación, la implementación y la transferencia del programa.

Simposios y Taller

Simposio Conjunto Fondap Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile y Fondap Centro de Regulación Celular y Patología, P. Universidad Católica de Chile

Mecanismos Sinápticos de la Memoria

ROLE OF CALCIUM SIGNALS IN SPATIAL MEMORY ACQUISITION AND CONSOLIDATION. Cecilia Hidalgo, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

In mammalian brain, spatial memory has been associated with the hippocampus. Both calcium and Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) contribute to the acquisition and consolidation stages of spatial memory, while consolidation also requires protein kinase Mζ (PKMζ). The N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors have a key role in some types of synaptic plasticity, whereas calcium release via intracellular ryanodine receptor (RyR) channels modulates synaptic plasticity, including late-LTP and aversive memory. Consequently, we studied RyR participation in synaptic plasticity induced by NMDA or BDNF in rat hippocampal cells in primary culture, or in spatial memory task training. We found that postsynaptic calcium signals arising from NMDA receptor activation were amplified by RyR-mediated calcium-induced calcium release (CICR). Incubation of neuronal rat hippocampal cultures with 50 ng/ml BDNF for 6 h increased RyR2, RyR3 and PKMζ mRNA levels and the protein contents of RyR2 and RyR3. Preincubation with 50 μM ryanodine for 1 h – a condition that inhibits RyR - prevented the increments in PKMζ mRNA levels and RyR2-RyR3 protein contents. The hippocampus of trained rats showed increased expression of RyR3 protein and PKMζ mRNA, whereas intra-CA1 injection of ryanodine, at RyR-activating concentrations, increased spatial memory task acquisition rates. Our results suggest that RyR-mediated calcium signals contribute to NMDA- or BDNF-induced synaptic plasticity via CICR, and have a role in spatial memory task training, presumably through calcium-mediated expression of key signaling proteins including RyR itself and PKMζ. In fact, *in silico* analysis indicates that both RyR and PKMζ promoter genes possess calcium-dependent response elements.

Supported by FONDECYT projects 3070035 (postdoctoral), 15010006 (FONDAP-CEMC) and 1060177.

PERSISTENCIA DE LA MEMORIA: UNA NUEVA FASE QUE DEPENDE DE SÍNTESIS PROTEICA Y DE BDNF. Jorge Medina, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

La persistencia es probablemente el atributo fundamental de las memorias. Una memoria puede durar minutos, horas, días, semanas o hasta una vida entera. ¿Cuál es el mecanismo que determina que una memoria perdure más allá de la tasa de recambio de los componentes que conforman los circuitos neurales?
Recientemente, hemos demostrado que la traza de memoria requiere, para persistir, de una fase tardía de síntesis proteica en el hipocampo. Esta fase ocurre al menos a las 12 horas después del aprendizaje y no interviene en la formación de la memoria, solo en su duración. BDNF es necesario y suficiente para la expresión de dicha fase.
Estos hallazgos indican que una nueva fase de la memoria, a la que denominaremos de persistencia, es la que se encarga de sostener la traza de memoria para permitir su almacenamiento de larga duración.

¿ES LA REGIÓN SINÁPTICA, EL BLANCO DEL PÉPTIDO β-AMILOIDE? Nibaldo C. Inestrosa, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent neurodegenerative disease in the growing population of elderly people. Synaptic dysfunction is an early manifestation of Alzheimer's disease (AD). The cellular mechanism by which amyloid β-peptide (Aβ) affects synapses remains unclear. Aβ oligomers target synapses in cultured rat hippocampal neurons suggesting that they play a key role in the regulation of synapses. One of the first indications that the Aβ peptide interacts with synapse components, was the observation that AChE interacts with the Aβ. Recent studies indicated that the postsynaptic molecule neuroligin also interacts with Aβ peptide.
We propose that both AChE and neuroligin could target Aβ oligomers to the synapse, where Aβ oligomers induce a reduction of PSD-95, NMDA and AMPA receptors and the subsequent decrease in the synapse number. α7-nAChR activation prevents the postsynaptic impairment induced by Aβ oligomers. *Wnt-5a*, a non-canonical Wnt ligand, also prevents the decrease triggered by Aβ. Altogether, our results suggest that Aβ oligomers affect the postsynaptic region at different levels, being the first target its interaction with AChE and neuroligin and then with more specific postsynaptic components (see above). The activation of Wnt signaling may be of therapeutic interest in the fight against Aβ.

Support by: FONDAP Nº13980001 and MIFAB.

CHARACTERIZATION OF $A\beta_{1-40}$-INDUCED INFLAMMATORY RESPONSE IN AN ALZHEIMER'S DISEASE ANIMAL MODEL: ROLE OF TNF-α SIGNALING PATHWAY ON COX-2 AND INOS EXPRESSION. Joao Calixto, Dep. Farmacología, Universidad Federal de Santa Catarina, Brasil.

Increased brain deposition of amyloid β protein (Aβ) and cognitive deficits are classical signals of Alzheimer's disease (AD), which have been highly associated to inflammatory alterations. The present work was designed to determine the correlation between TNF-α-related signaling pathways and COX-2/iNOS expression in a mouse model of AD, by means of both in vivo and in vitro approaches. The intracerebroventricular (icv) injection of $A\beta_{1-40}$ (400 pmol/mice) in mice resulted in marked deficits of learning and memory, according to assessment in the Water maze paradigm. These cognitive deficits were reduced by pharmacological blockage of tumor necrosis factor-α (TNF-α) or inducible nitric oxide synthase (iNOS), as well as in TNF-α receptor 1- and iNOS-knockout mice. A decrease in synaptophysin suggests a synaptic failure. $A\beta_{1-40}$ administration induced an increase of TNF-α expression in the hippocampus. Likewise, $A\beta_{1-40}$ led to activation of downstream signaling enzymes - namely MAPKs and phosphatidylinositol 3-kinase (PI-3K) - and of transcription factors NF-κB and cAMP-response element-binding (CREB), resulting in COX-2 and iNOS up-regulation. The anti-TNF-α antibody (10 ng/mice, icv) reduced all the molecular alterations promoted by $A\beta_{1-40}$. These results provide new insights in mouse models of AD, revealing TNF-α as central mediator of Aβ action. These pathways might be targeted for AD drug development.

Simposio Nucleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, P. Universidad Católica de Chile

Circuitos Moleculares que Regulan la Función de Células Inmunes

CONTROL OF PERIPHERAL TOLERANCE BY REGULATORY T CELLS. Randolph J. Noelle, Department of Microbiology and Immunology. Dartmouth Medical School, USA.

New insights into how immunity is controlled: the profound role of regulatory T cells. For many decades we have known that T lymphocytes can be activated to destroy invading pathogens and protect the host from ravaging infection. However, when the immune system goes awry, these inflammatory T cells can manifest effective, and sometimes lethal responses against the host resulting in the development of autoimmune disease. Only in the last ten years have we realized that there exists a population of regulatory T cells that can temper immunity in the host and limit the autoaggressive nature of the immune system. While usually beneficial, regulatory T cells can prevent the host from making protective immune responses to cancer. The presentation will discuss the phenotypic and functional features of regulatory T cells and the types of subsets that exist. In addition, the cells and factors that control the differentiation of these cells will be detailed.

TARGETING CELLULAR REGULATORY CHECKPOINTS FOR THE GENERATION OF EFFICACIOUS ANTI-TUMOR RESPONSES. Sergio A. Quezada, Howard Hughes Medical Institute, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center and Nucleo Milenio en Inmunologia e Inmunoterapia.

Interference with the inhibitory immunological checkpoints controlling T-cell activation provides new opportunities to augment cancer immunotherapies. Among the most relevant checkpoints, a specific cellular subset of regulatory T cells capable of dampening immune responses to self and non-self is at the center of the attention. Regulatory T cells negatively control the immune responses to self and foreign proteins and their depletion often results in enhanced immune responses to virus, bacteria and even exacerbation of autoimmunity. It is based on these that different approaches have been taken to deplete this regulatory T cell subset in order to enhance anti-tumor immunity. Despite this, their depletion has failed to consistently enhance immune-based approaches in the fight against cancer. Using in vivo models we show that the depletion of regulatory T cells induces strong anti-tumor responses, but these fail to infiltrate and reject the tumor due to lack of activation of the tumor vasculature. This work will further discuss the reasons and mechanism underpinning these results and how to overcome the impermeability of the tumor to induce rejection of established melanoma in mice and humans.

INTERACCIONES MOLECULARES EN LA SINAPSIS INMUNOLÓGICA QUE MANTIENEN EL EQUILIBRIO ENTRE INMUNIDAD Y AUTOINMUNIDAD. Alexis M. Kalergis, Núcleo Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Nuestra investigación se concentra en las interacciones moleculares que promueven la formación de la sinapsis inmunológica entre la célula T y la célula dendrítica presentadora de antígenos. Esta sinapsis es esencial para la respuesta inmune responsable de proteger al hospedero contra agentes patógenos. Específicamente, estos estudios apuntan a dilucidar los mecanismos moleculares por los cuales la célula dendrítica controla la activación de la célula T. Además, nos interesa identificar los mecanismos moleculares desarrollados por los patógenos para interferir con la formación de la sinapsis inmunológica, con el objeto de evadir la respuesta inmune. Finalmente, el entendimiento de los mecanismos moleculares que regulan la sinapsis inmunológica es clave para prevenir el desarrollo de enfermedades autoinmunes, tales como la Esclerosis Múltiple y el Lupus Eritematoso Sistémico. Los nuevos conocimientos generados serán aplicados a la optimización de la inmunidad contra agentes infecciosos bacterianos y virales.

Simposio Sociedad de Biología Celular de Chile

Neurobiología y Desarrollo

NEUROENDOCRINE CONTROL OF POSTEMBRYONIC DEVELOPMENT IN THE FRUIT FLY, *Drosophila melanogaster*. John Ewer, Centro de Neurociencias de Valparaíso, Universidad de Valparaíso, Valparaíso.

Insects have a rigid exoskeleton. Continuous growth therefore requires the periodic replacement of the exoskeleton of one stage with a larger one for the next stage. The process of making a new exoskeleton, called molting, culminates with ecdysis, the behavior used to shed the exoskeleton from the previous stage. The expression of ecdysis at the correct developmental time at the end of the molt is critical to the insect's survival, and failures at ecdysis are rapidly and invariably fatal.
Ecdysis is regulated by a series of interacting neuropeptides. Three main neuropeptides control the behavioral routines as well as other related physiological events expressed at ecdysis: Ecdysis Triggering Hormone (ETH), Eclosion Hormone (EH), and Crustacean Cardioactive Peptide (CCAP). Following ecdysis, the release of the neuropeptide bursicon causes wing inflation, and the hardening and melanization of the new exoskeleton, which are the final steps of the ecdysis sequence. We are using a genetic approach to understand how ecdysis is controlled using the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. This is an attractive model system for understanding how neuropeptides cause changes in physiology and behavior because of the powerful genetic and molecular tools available in *Drosophila*. I will present our progress in understanding how ETH, EH, CCAP and bursicon regulate ecdysis to ensure the flawless passage from one stage to the next during insect

DEVELOPMENT OF THE OLFACTORY SENSORY SYSTEM AND ASSOCIATED NEUROENDOCRINE CELLS. Kathleen E. Whitlock, Centro de Neurociencias de Valparaíso, Universidad de Valparaíso, Valparaíso.

Our studies have generated a new model for olfactory organ development by demonstrating that the olfactory epithelium originates from the convergence of a broad field of cells extending to the anterior limits of pre-migratory cranial neural crest (1). In addition, the anterior domain of cranial neural crest gives rise to the neuromodulatory GnRH cells of the terminal nerve previously thought to arise from the olfactory placode (2) and GnRH cells of the midbrain (3). In our analysis of the subsequent differentiation of olfactory sensory neurons we have shown that the environment (odors) can alter gene expression during early development and differentiation of the olfactory sensory neurons (4). We are currently investigating the role of sensory experience in the differentiation of olfactory sensory neurons and targeting of their axons to the olfactory bulb during early development. In addition we are analyzing the cellular movements underlying the formation of the olfactory placode, frontal mass and hypothalamus (endocrine GnRH cells) through the use of transgenic fish, mutant lines, and gene knock-down experiments. Using these techniques we will dissect the genetic pathways essential for the patterning and differentiation of the olfactory sensory system and associated frontal mass and neuroendocrine cells. In the future we will use our knowledge to better understand how the natural (sensory experience) and man-made (contaminants) environments affect change in the developing nervous system of vertebrate animals.

1. Whitlock KE. (2004) Brain Behav Evol. 64(3): 126-40.
2. Whitlock KE. (2004) Trends Endocrinol Metab. 16(4): 145-51.
3. Whitlock KE, Smith KM, Kim H, Harden MV. (2005) Development. 132(24): 5491-502.
4. Harden MV, Newton LA, Lloyd RC, Whitlock KE. (2006) 66(13): 1452-66.

TRANSFERENCIA DE RIBOSOMAS DESDE LA CÉLULA DE SCHWANN AL AXÓN EN NERVIO CIÁTICO. Felipe Court, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

Protein synthesis in axons is gaining acceptance but evidence for axonal ribosomes is scant. Local protein synthesis is required for growth cone guidance in outgrowing axons and for regenerative responses in adult peripheral nerves. Using electron microscopy (EM) we show here the presence of a small population of (poly)ribosomes in intact axons of wild-type and Wld^s mutant mice, that increased substantially distal to a transection before axons degenerated. The molecular make-up of axonal ribosomes was confirmed with several probes, both at EM and light microscopy levels. To substantiate the local origin of axonal ribosomes, fluorescent ribosomes were expressed in Schwann cells by infecting sciatic nerves distal to a transection, with a lentivirus encoding a ribosomal protein fused to enhanced green fluorescent protein (eGFP). Regenerating axons of wild-type mice and surviving axons of Wld^s mice exhibited eGFP signal, which co-localized with ribosomal probes. From this we conclude that axonal ribosomes originate in Schwann cells. We propose that ribosomes supplied by glial cells provide a direct mechanism for the local control of metabolism, maintenance, phenotype and plasticity of axons. We anticipate that this mechanism will have a large impact on our understanding of the nervous system in health and disease.

Taller Sociedad de Biología Celular de Chile

Estrategias de Financiamiento y Perspectivas Para los Biólogos Celulares en el Chile de Hoy y Mañana

Modera:	**Dr.**	**Jorge Martínez,**	INTA, Universidad de Chile
Participan:	**Dra.**	**Cecilia Hidalgo**,	ICBM, Universidad de Chile
	Dr.	**Alexis Kalergis**,	FCB, P. Universidad Católica de Chile
	Dr.	**Mario Rosemblatt**,	Fundación Ciencia para la Vida
	Dr.	**Miguel O'Ryan**,	ICBM, Universidad de Chile

Durante el presente año, la discusión respecto del financiamiento de la ciencia ha cobrado nuevos bríos. El Consejo Nacional de Innovación para la Competitividad (CNIC) -órgano asesor de la Presidencia encargado de la elaboración de una Estrategia Nacional de Innovación que incluye el rediseño del Sistema Nacional de Innovación- ha comenzado a entregar algunas directrices respecto de sus prioridades en materia de investigación científica y de las formas institucionales que se proponen para asumir esta tarea. Como es de público conocimiento, esta última idea generó la inédita respuesta de las principales autoridades universitarias del país quienes cuestionaron las consideraciones implícitas y explícitas que la propuesta contenía respecto de la participación de las universidades en materia de investigación e innovación.

Más allá del hecho que este conflicto se haya resuelto a favor de una u otra de las posiciones enfrentadas, la oportunidad sirvió para que la comunidad científica apreciara la distancia que la separa de los organismos que adoptan decisiones en materia de diseño de una política científica nacional. Este panorama, y el hecho evidente que por primera vez en la historia los recursos económicos parecieran no ser limitantes, ha generado un clima de incertidumbre respecto del futuro de la ciencia básica, de la formación del recurso humano calificado y del rol que le compete al Estado en materia de financiamiento de investigación no necesariamente vinculada al proceso productivo.

Las señales que es posible apreciar en la actualidad permiten sostener que gran parte de los recursos frescos que se están inyectando al sistema científico serán ofrecidos a través de programas que contienen modalidades de financiamiento mixtos (público-privado) con un marcado acento en lo productivo, mientras que los programas tradicionales –que incluyen el cultivo de disciplinas y la formación local de científicos- han mantenido los niveles de financiamiento históricos.

La Sociedad de Biología Celular de Chile quiere hacerse parte de esta discusión en la convicción de que estamos viviendo un proceso trascendental que definirá en gran medida la forma como haremos ciencia en el futuro cercano. En ese sentido, queremos invitar a sumarse al debate a nuestros estudiantes y a quienes se inician en la carrera de la investigación científica. Ellos trabajarán en un escenario institucional que puede ser muy distinto al actual, que muy probablemente ofrecerá oportunidades y desafíos inéditos y respecto de cual debemos comenzar a reflexionar con prontitud.

Comunicaciones Libres

COMUNICACIONES LIBRES I

MUTANTES DE EFECTO MATERNO Y "FENOCOPIAS" SUMINISTRAN IMPORTANTE INFORMACION SOBRE LA PARTICIPACION DEL CITOESQUELETO EN LA SEGREGACION OVOPLASMICA EN EL ZIGOTO DEL PEZ CEBRA (Maternal-effect mutants and "phenocopies" provide important information on the participation of the cytoskeleton in ooplasmic segregation in the zebrafish zygote) **Juan Fernández**, Rodrigo Alvarez y Ricardo Fuentes. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. jfernand@abello.dic.uchile.cl

Objetivos Dilucidar como alteraciones en la organización del citoesqueleto, provocadas por mutaciones, anticuerpos, inhibidores de mecanoenzimas y venenos del citoesqueleto, generan anomalías en la segregación ovoplásmica y formación del blastodisco.
Metodología. Mutantes que afectan la polaridad animal/vegetal del huevo (bucky ball) y la segregación ovoplásmica (emulsion) fueron obtenidos mediante el cruce de hembras homocigotas para la mutación con machos silvestres. La segregación ovoplásmica fue estudiada en zigotos vivos microinyectados con dextrano fluorescente o después de una fijación ácida. "Fenocopias" de los mutantes se logró inyectando zigotos con anti cdc-42, anti dineína, N-etil maleimida o colcemida. La organización del citoesqueleto se analizó por inmunofluorescencia.
Resultados. (a) En el zigoto del mutante *bucky ball*, o en el tratado con anti cdc-42, el flujo bidireccional normal de ovoplasma se convierte en flujo multidireccional que puede generar numerosos focos periféricos de ovoplasma (pseudo blastodiscos), (b) En el zigoto del mutante *emulsion*, al igual que en los microinyectados con antidineína, N-etil maleimida o colcemida, la separación de vitelo y ovoplasma y el flujo bidireccional de este último son interrumpidos resultando un blastodisco más pequeño, (c) El citoesqueleto de los mutantes y "fenocopias" está fuertemente modificado.
Conclusiones. La segregación ovoplásmica en el zigoto del pez zebra está regulada por genes maternos cuyos productos afectan directa o indirectamente la estructura y función del citoesqueleto

(Fondecyt 1030879).

PÉPTIDOS MEMBRANA PERMEABLE REVELAN NUEVAS PROPIEDADES EN LA RUTA EXOCITICA BASOLATERAL (Membrane-permeant peptides reveal novel properties in the basolateral exocytic route) **Carolina Torrealba,** Jorge Cancino y Alfonso González. Unidad de Estructura y Función Celular, Facultad Medicina. Centro FONDAP Regulación Celular y Patología "Joaquín Luco" (CRCP). Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile y MIFAB. ctorrear@uc.cl

Objetivo: Las células epiteliales destinan selectivamente proteínas a los polos apical o basolateral. Las proteínas basolaterales contienen en sus regiones citosólicas diversos tipos de señales de destinación, frecuentemente basadas en tirosina, pero aún no se sabe exactamente dónde y cómo son reconocidas. Ciertas células epiteliales expresan un complejo adaptador, AP1B, mediador de la destinación de un subconjunto de proteínas basolaterales. En este trabajo analizamos los determinantes de la segregación basolateral de proteínas dependientes de AP1B.
Metodología: La estrategia es interferir con el transporte basolateral utilizando péptidos membrana permeable que contienen distintas señales de destinación basolateral. Evaluamos el efecto de estos péptidos sobre el tráfico de proteínas de transmembrana y de secreción basolateral en células epiteliales MDCK.
Resultados: Encontramos que péptidos que contienen distintas señales de destinación basolateral con residuos tirosina, inhiben el transporte de las proteínas correspondientes hacia la superficie basolateral, pero en compartimentos diferentes, y disocian al complejo AP1B de la membrana de endosomas de reciclaje. La proteína VSVG inhibe su tráfico en un compartimento endosomal post TGN, en cambio el LDLR se inhibe en TGN.
Conclusiones: Nuestros resultados muestran que el TGN es capaz de discriminar entre señales de destinación basadas en tirosina y apoyan la existencia de una ruta basolateral que cruza un compartimento endosomal.

PREVALECIA DE MONÓMEROS DE LAS SUBUNIDADES DEL RECEPTOR $GABA_B$ EN DENDRITAS Y AXONES DE NEURONAS HIPOCAMPALES. (Prevalence of monomeric $GABA_B$ receptor subunits in dendrites and axons of hippocampal neurons). **Omar A. Ramírez**[‡], René L. Vidal[‡], Judith A. Tello[‡], Steffen Härtel[¶] y Andrés Couve[‡]. [‡]Programa de Fisiología y Biofísica y [¶]Programa de Anatomía y Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile. oramirez@med.uchile.cl

Objetivos. La disponibilidad de receptores $GABA_B$ en la membrana plasmática neuronal es esencial para mantener la eficacia de la inhibición sináptica. Sin embargo, se conoce poco acerca de los mecanismos que regulan el transporte e inserción de receptores en dendritas y axones. En particular, no se sabe si ambas subunidades son transportadas individualmente o preensambladas como heterodímero desde la región somática.
Metodología. Hemos estudiado la distribución de las subunidades $GABA_BR1$ y $GABA_BR2$ en dendritas y axones de neuronas hipocampales en cultivo combinando microscopía confocal, una nueva metodología de colocalización cuantitativa y análisis bioquímico.
Resultados. Las subunidades del receptor colocalizan en la membrana plasmática, pero presentan una inesperada abundancia de monómeros en compartimientos intracelulares. La prevalencia de monómeros es independiente de la sinaptogénesis y se debe a su enriquecimiento en distintos compartimientos intracelulares.
Conclusiones. Las subunidades del receptor $GABA_B$ son transportadas individualmente. El transporte en dendritas y axones ocurre a través de procesos similares. Postulamos la existencia de un mecanismo de regulación negativa de la heterodimerización y que las subunidades son ensambladas cerca del sitio de inserción en respuesta a señales de actividad sináptica.

Financiamiento: FONDECYT 1071001, MILENIO ICM-P04-068-F, MECESUP UCH306

LAS CÉLULAS DE SCHWANN REQUIEREN SEPTINA 7 PARA ORGANIZAR SU CITOESQUELETO DE ACTINA CON EL FIN DE ENVOLVER Y MIELINIZAR AXONES. (Schwann Cells require Septin 7 for actin cytoskeleton dependent axonal ensheathment and mielination). **Alejandro D. Roth**[1], Anna Ivanova[2], David R. Colman[2]. [1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Santiago, Chile. [2]Montreal Neurological Institute, McGill University, Montreal, Canadá. alejroth@uchile.cl

La vaina de mielina, formada por apilamientos multilaminares de membrana plasmática, acelera la conducción del impulso nervioso a lo largo del axón. Esta estructura presenta dos dominios morfológica y bioquímicamente distintos: la mielina compacta y los canales citoplasmáticos, que conectan con el cuerpo celular y realizan el soporte metabólico de la mielina compacta. Estos dominios adyacentes presentan notables diferencias en sus proteínas y lípidos, sin embargo, los mecanismos que restringen la difusión entre ellos son desconocidos. La caracterización del proteoma de ambos dominios mostró la presencia de proteínas de la familia de las septinas, GTPasas asociadas al citoesqueleto que participan en la inhibición de difusión de proteínas entre células en división. Objetivo: caracterizar la importancia de la septina 7 (Sept7) en las células mielinizantes.
Métodos: ARN inhibitorios reducen la expresión de Sept7 de las células mielinizantes en co-cultivos con neuronas.
Resultados: la inhibición de Sept7 induce desorganización de los filamentos de actina de las células de Schwann, impidiendo que estas se enrosquen entorno a los con axones, abortando la mielinización in vitro. A su vez, la despolimerización del citoesqueleto de actina desorganiza los complejos de Sept7. Conclusiones: Sept7 participa en la organización del citoesqueleto de actina de las células de Schwann durante la asociación y enroscamiento inicial de los axones.

EFECTOS INHIBITORIOS DE AGREGADOS DEL PÉPTIDO $A\beta_{1-40}$ SOBRE UN MODELO DE PLASTICIDAD SINÁPTICA ACTIVIDAD-DEPENDIENTE EN NEURONAS DE HIPOCAMPO (Inhibitory effects of $A\beta_{1-40}$ aggregates on an activity-dependent plasticity model in hippocampal neurons) **Sepúlveda FJ,** Parodi J, Cuevas M, Opazo C. & Aguayo LG. Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción, Chile.

Objetivos. La enfermedad de Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo con marcada pérdida en las funciones cognitivas. Una característica de la EA es la presencia de agregados Aβ ($A\beta_{1-40}$ y $A\beta_{1-42}$) en el sistema nervioso central. Actualmente, no se entiende completamente como la presencia de agregados Aβ se asociaría a la pérdida de estas funciones cognitivas. Por lo tanto, en este trabajo nos propusimos evaluar los efectos de agregados $A\beta_{1-40}$ en un modelo de plasticidad sináptica, que depende de la actividad neuronal.
Metodología. Neuronas de hipocampo de rata (10 DIV) fueron tratadas con bicuculina (5 μM, 24hr), en presencia y ausencia de agregados $A\beta_{1-40}$ (0.5 μM). Posteriormente mediante técnicas de patch clamp, inmunocitoquímica, microscopia electrónica, Western blot se determinaron los efectos de ambas condiciones.
Resultados. Neuronas de hipocampo responden con un fuerte aumento en la transmisión sináptica (frecuencia y amplitud) después de un bloqueo crónico de los receptores $GABA_A$ con bicuculina, fenómeno que hemos denominado plasticidad anti-homeostática. Por otra parte, CREB, así como la actividad transcripcional asociada a este factor de transcripción, participarían en el establecimiento de los cambios asociados al modelo de plasticidad. La presencia de agregados en forma crónica fue capaz de bloquear este fenómeno de plasticidad sináptica.
Conclusiones. Neuronas de hipocampo expuestas a agregados $A\beta_{1-40}$ presentan menor plasticidad sináptica. Esta evidencia podría ayudar a explicar los mecanismos asociados la pérdida en procesos cognitivos que se observan en pacientes con la EA.

Financiamiento. FJS es becario CONICYT. Fondecyt 1020475, 1060358 y Proyecto Anillo-PBCT ACT-04.

CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS (MSC) CONTRIBUYEN A LA REGENERACIÓN PANCREÁTICA Y RENAL EN MODELO ANIMAL DE DIABETES TIPO 1. (MSC contribute to pancreas and kidney regeneration in Type 1 Diabetic mice) **Fernando Ezquer[1],** Marcelo Ezquer[1], Daniel Carpio[2], Alejandro Yañez[2], Paulette Conget[1]. [1]Instituto de Ciencias, Facultad de Medicina Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo. [2]Instituto de Bioquímica, Universidad Austral. eezquer@udd.cl

Objetivo: Dado que las MSC contribuyen a la regeneración tisular en modelos de daño óseo y condral pero también en infarto cardiaco y cerebral, en el presente trabajo se evaluó la potencial contribución de la administración sistémica de MSC a la regeneración pancreática y renal en un modelo animal de Diabetes Tipo 1.
Metodología: Se indujo Diabetes Tipo 1 inyectando 5 dosis de estreptozotocina (40 mg/kg) a ratones C57BL/6J. Cuando las manifestaciones de la diabetes eran evidentes, los animales fueron separados aleatoriamente en 2 grupos: unos recibieron i.v. vehículo y otros, $5x10^5$ MSC. Luego, se evaluó función y estructura pancreática y renal.
Resultados: Una semana después de la intervención, sólo los animales tratados con MSC redujeron los niveles de glucosa sanguínea, alcanzando euglicemia 1 mes después de la intervención. A los 2 meses, sólo en los animales tratados con MSC se observó un aumentó en el número de islotes-β-pancreáticos morfológica y funcionalmente normales. Además, los animales tratados con MSC mantuvieron normales la función y estructura renal. Mientras los animales diabéticos no tratados presentaron albuminuria, hialinosis glomerular y expansión mesangial.
Conclusión: La administración de MSC promueve la regeneración de islotes-β-pancreáticos y evita el daño renal en individuos con Diabetes Tipo 1.
Las MSC podrían utilizarse en terapia celular para tratar tanto la Diabetes Tipo 1 como sus complicaciones, en particular la nefropatía diabética.

Trabajo financiado por Proyecto PBCT(PSD34) a P.C.

ENZIMATIC REGULATION OF THE AP3 SORTING MACHINERY (Regulación enzimática de la maquinaria de destinación AP3) **Salazar, G.**, Craige, B and Faundez, V. Dept. Cell Biology, Emory University. gsalazar@cellbio.emory.edu (Patrocinio: M. Bravo)

Objective In all cells, the ubiquitous isoform of the adaptor complex AP-3 generates vesicles that sort components from endosomes to lysosomes. In addition, neurons also express a neuronal specific AP-3 isoform that targets a subset of synaptic vesicle membrane proteins to synaptic vesicles. Like other adaptors, the small GTPase ARF1 regulates AP-3 membrane recruitment. However, other than this GTPase, we lack a comprehensive molecular picture of AP-3 function regulation. In order to identify proteins regulating AP-3 function, we purified either AP-3 coated vesicles or AP-3 'sorting particle complexes'.
Methods The molecular composition of AP-3 vesicles and complexes were defined by nano-LC MS/MS and further analyzed by immunoprecipitation and deconvolution microscopy.
Results AP-3 vesicles and sorting particles contained, among their most prominent components, phosphatidylinositol-4-kinase type II alpha (PI4K). We focused on PI4K because inositol lipids have a well-defined role in adaptor recruitment, the first step in vesicle biogenesis. We demonstrated that PI4K localizes to endo-lysosomal compartments, and AP-3 generated synaptic vesicles. PI4K gain- and loss-of-function indicate a role of the kinase in AP-3-dependent vesicle formation. These observations led us to hypothesize that PI4K regulates AP-3 by interacting with and recruiting AP-3 to endosomal membranes. Deconvolution microscopy and co-immunoprecipitation supports this hypothesis by revealing colocalization and a complex formation between AP-3, PI4K, and other AP-3 cargoes on endosomal membranes. In addition, PI4K siRNA showed dramatic alterations of the endosomal system' morphology and aberrant targeting of the AP-3 cargo LAMP-1.
Conclusion We propose a novel sorting mechanism in which PI4K acts as both a regulator and a cargo of AP-3 complex.

FIBRINA MODIFICA EL FENOTIPO SENESCENTE DE FIBROBLASTOS DE PIEL HUMANA (Fibrin modified the senescent phenotype of human dermal fibroblasts). **Cristian Acevedo Gutiérrez,** cristian.acevedo@usm.cl, Programa Doctorado Biotecnología PUCV-UTFSM. Manuel Young Anze, manuel.young@usm.cl, Centro Biotecnología UTFSM. Juan Reyes Martínez, jreyes@ucv.cl, Instituto de Química PUCV.

Objetivo La senescencia de fibroblastos de piel posee un impacto estético y de retardo de cicatrización, afectando también la calidad y eficiencia de cultivos *in vitro* para trasplantes de este órgano. Considerando la importancia del fenómeno de senescencia, en este trabajo se propuso caracterizar el efecto de cultivo en matrices de fibrina sobre el estado de senescencia de fibroblastos de piel humana.
Metodología Fibroblastos humanos se aislaron de dermis de prepucios de donantes jóvenes sanos, y fueron envejecidos por traspasos en cultivo hasta obtener >90% células con reacción positiva a SA/β-Gal. Células pre-senescentes y senescentes fueron inmovilizadas en coágulos de fibrina mezclando soluciones de fibrinógeno, trombina y suspensiones celulares. El crecimiento celular se determinó utilizando MTT y el fenotipo senescente con SA/β-Gal.
Resultados La inmovilización de fibroblastos senescentes en coágulos de fibrina incrementó la actividad MTT, la que se correlacionó positiva y significativamente con el número de células viables. La intensidad de la expresión SA/β-Gal decreció significativamente. Además, las células indujeron fibrinólisis, observándose un drástico cambió metabólico y morfológico de las células senescentes inmovilizadas en coágulos de fibrina.
Conclusiones La fibrina induce un cambio del fenotipo de fibroblastos senescentes humanos y restablece parcialmente la capacidad de crecimiento celular. Estos efectos de fibrina abren nuevas avenidas para entender y revertir parcialmente el fenómeno de senescencia en fibroblastos humanos.

Agradecimientos Proyecto FONDEF 02I1009
Beca Doctorado CONICYT para Cristian Acevedo (D-21050588)

COMUNICACIONES LIBRES II

EL ESTABLECIMIENTO DEL EJE IZQUIERDA-DERECHA DEPENDE DE UN PROCESO DE EPITELIALIZACIÓN COORDINADO POR LA VÍA DE POLARIDAD PLANA WNT/PCP (Wnt/planar cell polarity dependent tissue epithelialization is required for left-right patterning). Oteiza P., Köppen M.[1], Krieg M.[2], Preibisch S.[1], Müller M.[2], Heisenberg C.-P.[1], **Concha M.L.** Prog. de Anatomía y Biol. del Desarrollo. ICBM. Fac.de Medicina, Universidad de Chile. [1]MPI-CBG, Dresden. [2]Biotec, Dresden. mconcha@med.uchile.cl, pablo@neuro.med.uchile.cl

Objetivos: Aunque se han identificado muchos factores involucrados en la transición mesénquimo-epitelial, se conoce muy poco sobre la regulación de este proceso durante el desarrollo. En este trabajo se investigó la participación de la vía de polaridad plana Wnt/PCP en el proceso de epitelialización de la vesícula de Kupffer, el órgano de asimetría de pez cebra. **Metodología:** Se utilizaron aproximaciones genéticas (análisis de mutantes y morfantes), morfológicas (microscopía confocal de embriones transgénicos-GFP e inmunofluorescencia), y de adhesión celular (espectroscopia de fuerza de células únicas). **Resultados**: La morfogénesis de la vesícula de Kupffer involucra la transformación de un cluster de células mesenquimatosas en una estructura epitelial tipo roseta, a partir de la cual se organiza la formación de un órgano vesicular plano con un lumen ciliado. Alteraciones de la vía Wnt/PCP se traducen en la formación de rosetas epiteliales irregulares, lo que compromete la formación del lumen y los cilios. Este es consecuencia de una disminución en la cohesión celular dependiente de caderinas, lo cual afecta el proceso de epitelialización, generando alteraciones que afectan la función de la vesícula de Kupffer en el establecimiento del eje izquierda-derecha. **Conclusiones:** Estos resultados revelan una nueva función de la vía Wnt/PCP en coordinar un proceso de transición mesénquimo-epitelial responsable de establecer el patrón global de asimetrías izquierda-derecha.

Financiamiento**:** CONICYT (PBCT ACT47), MIDEPLAN (ICM P04-068-F), Howard Hughes Medical Institute (INTNL 55005940), Commission of the European Communities (FP6-2004-NEST-PATH EDCBNL)

PPARγ SE MUEVE EN FORMA RETRÓGRADA EN EL NERVIO CIÁTICO DE RATA Y SE ASOCIA A ENDOSOMAS EN CÉLULAS NEURONALES PC12. (PPARγ presents retrograde movement in the rat sciatic nerve and is associated to endosomes in PC12 neuronal cells). **Lezana, J.P.**, Pacheco, A., Allende E., Bronfman, F.C. y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) y Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Center for Genomics and Bioinformatics, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Objetivo. PPARγ es un factor de transcripción nuclear involucrado en patologías como resistencia a insulina, diabetes, y enfermedades neurodegenerativas. A diferencia de PPARα y β, PPARγ está presente en neuritas y conos de crecimiento de diversos tipos neuronales, así como en nervio ciático de rata. Su función en esta localización subcelular neuronal, atípica para factores de transcripción, no se conoce. En este trabajo estudiamos el transporte de PPARγ en nervio ciático de rata y su asociación a endosomas de transporte en células PC12.
Metodología. Nervio ciático de rata fue expuesto y sometido a doble ligadura, posteriormente secciones de 10μm fueron analizadas por inmunofluorescencia. Endosomas de células PC12 fueron obtenidos por gradiente de velocidad en Ficoll.
Resultados. La acumulación de PPARγ en la zona distal de la ligadura indica un transporte retrógrado de este factor de transcripción, confirmado además, por la co-localización de PPARγ con APP y JNK, moléculas transportadas retrógradamente en axón. Finalmente, la presencia de PPARγ en endosomas sugiere que este factor de transcripción participaría del transporte axonal mediado por vesículas en células PC12.
Conclusiones. Nuestros resultados sugieren que, PPARγ participaría en los procesos de comunicación neuronal, tales como respuesta al daño y regeneración.

RECEPTORES CANABINOIDE (CB1) Y DE DOPAMINA (D2R) EN CÉLULAS GERMINALES MASCULINAS: UN MODELO DE INTERACCIÓN FUNCIONAL Y SEÑALIZACIÓN DEPENDIENTE DE CAMP (Cannabinoid (CB1) and dopamine (D2R) receptors in male germ cells: a model for a functional interaction and cAMP- dependent signalling) **Alfredo Ramírez**[1]; Maite Castro[1]; Laura Ramió[2]; Montserrat Rivera[2]; Mauricio Torres; Teresa Rigau[2]; Joan-Enric Rodríguez-Gil[2]; Ilona Concha[1] Instituto de Bioquímica Universidad Austral de Chile[1]; Unitat Reproducció Animal, Universitat Autónoma de Barcelona, España[2]. alfredoramirez@uach.cl

Objetivo*:* En este trabajo se estudia la coexpresión y asociación de los receptores CB1 y D2R en testículo y se evalúan funcionalmente los efectos de anandamida y dopamina sobre variados parámetros asociados a la señalización de cAMP en el contexto de la capacitación espermática.
Metodología*:* Como material biológico se usaron cerebro y testículos de rata adulta y dosis seminales certificadas de espermatozoides de cerdo. La coexpresión y asociación fue evaluada por inmunodetección, microscopía confocal y coinmunoprecipitación. La capacitación fue inducida con CaCl2, NaHCO3, BSA e IBMX y evaluada mediante inmunodetección de fosfotirosinas, cAMP, fosfo-Darpp-32 y PSA/FITC y la motilidad fue evaluada computarizadamente (SCA2002-Microptics).
Resultados*:* Los receptores CB1 y D2R son coexpresados en células espermatogénicas y en espermatozoides maduros. Ambos receptores parecen estar asociados en testículo y espermatozoides de una manera conservada. Utilizando la capacitación como modelo funcional se determinó que la coactivación de ambos receptores incrementa la acumulación de cAMP, y la mantención de su señal mediante fosforilación de DARPP-32(Tre34) y la fosforilacion en tirosinas. Además, se determinó una correlación funcional de dichos indicadores con el perfil de motilidad espermática.
Conclusiones*:* Los resultados sugieren que los endocanabinoides y dopamina pueden regular la función testicular. Los efectos de coactivación y la presencia de ambos ligandos en el tracto reproductivo femenino sugieren un control fisiológico de la capacitación espermática mediada por GPCRs.

Financiamiento: MECESUP; DID-UACH200509, FONDECYT 1060135 y AGL2001-2568-ESPAÑA.

TESTOSTERONA ACTIVA LA VÍA MTOR/S6K1 A TRAVÉS DE PI3K/AKT Y MEK/ERK EN CARDIOMIOCITOS (Testosterone activates mTOR/S6K1 pathway through PI3K/Akt and MEK/ERK in cardiomyocytes). **Francisco Altamirano**, César Oyarce, Sergio Lavandero y Manuel Estrada. FONDAP CEMC, Facultades de Medicina y Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. iestrada@med.uchile.cl

Objetivo La testosterona estimula el desarrollo de hipertrofia cardiaca, desconociéndose los mecanismos moleculares que median dicho efecto. Dado que la vía mTOR es un punto de convergencia para diversos estímulos prohipertróficos, en este trabajo se investigó si testosterona activa mTOR y si su estimulación depende de las cascadas transduccionales PI3K/Akt y/o MEK/ERK.
Metodología Cultivos primarios de cardiomiocitos de rata neonata se incubaron con testosterona (100 nM). La activación de la vía mTOR se evaluó por fosforilación de S6K1 en presencia o ausencia de rapamicina y la activación de las vías PI3K/Akt1/2 y/o MEK/ERK1/2 por la fosforilación de Akt1/2 y ERK1/2. Para determinar la participación de estas vías en la fosforilación de S6K1 las células se preincubaron con los inhibidores LY294002 y PD98059, respectivamente.
Resultados Testosterona indujo una rápida y transitoria fosforilación de S6K1 que fue bloqueada con rapamicina. Estos resultados sugieren que la activación de S6K1 por testosterona es mediada por mTOR. Testosterona también estimuló la fosforilación de ERK1/2 y Akt1/2 y el bloqueo de ambas vías inhibió la activación de S6K1.
Conclusiones Estos resultados revelan que testosterona activa las vías ERK1/2 y Akt1/2 en cardiomiocitos, a través de las cuales se activa la vía mTOR/S6K1. La proteína mTOR está asociada a la regulación de distintas vías metabólicas y su activación por testosterona podría participar en la génesis y desarrollo de un fenotipo hipertrófico en cardiomiocitos.

FONDECYT 1060077 (ME) y FONDAP 1501006 (SL)

PAPEL DE LAS ADAM 1, 9, 10 Y 17 EN LA APOPTOSIS DURANTE LA ESPERMATOGENESIS DE LA RATA (Role of ADAMs 1, 9, 10 y 17 in rat male germ cell apoptosis) **Carlos Lizama V**[1], Marcelo Antonelli[2] y Ricardo D. Moreno[1]. Pontificia Universidad Católica de Chile[1] y Universidad de Chile[2]. rmoreno@bio.puc.cl

Las ADAMs (A desintegrin and Metalloproteinase Protein) son una familia de proteasas extracelulares involucradas en el procesamiento de diversos receptores y ligandos extracelulares. Estas enzimas están vinculadas a procesos de crecimiento, diferenciación y muerte celular, dependiendo del contexto celular en que se encuentren.
Objetivo Evaluar la presencia y papel de las ADAMs 1, 9, 10 y 17 en la muerte celular durante la espermatogenesis de la rata.
Metodología Se utilizaron distintos modelos de inducción de muerte celular (Temperatura y Etoposide) en testículos de ratas de 21 días de edad. La apoptosis fisiológica e inducida, por citometria de flujo, Inmunohistoquimica y PCR. La expresión de estas enzimas se determinó por medio de RT-PCR e inmunohistoquímica.
Resultados Las ADAM 9 y 10 se expresaron principalmente en células germinales y células de Sertoli. La ADAM17 solo se detecto en células germinales. Experimentos de inducción de muerte no mostraron cambios en la expresión de ADAM 1 y 9. Sin embargo se detectó un aumento significativo en los niveles de las ADAM10 y 17 en células germinales solo por etoposido, pero no por temperatura. Por otra parte la inhibición de ADAM10 produjo un aumento en el número de células germinales en apoptosis. En contraste la inhibición de ADAM17 mostró una inhibición significativa en la apoptosis fisiológica de células germinales.
Conclusiones. Las ADAMs 1, 9, 10 y 17 se expresan de forma diferencial en el testículo de la rata. ADAM 10 y 17 pero no ADAM9 son importantes en el control de la apoptosis de células germinales.

FONDECYT 1070360 to RDM

ACTIVACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN DE COX-2 VÍA WNT/β-CATENINA EN CÉLULAS DE CÁNCER GÁSTRICO. (Transcriptional activation of COX-2 gene by Wnt/β-catenina pathway in gastric cancer cells) **Felipe Núñez**[1], Soraya Bravo[2], Fernando Cruzat[2], Martín Montecino[2] y Giancarlo De Ferrari[1]. [1]Lab. de Genética y Transducción de Señales y de [2]Biología Celular y Molecular, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción. gdeferrari@udec.cl

Objetivo La presencia de sitios putativos TBE (TCF/LEF binding element) en el promotor de COX-2, sugiere un rol de la vía de señales Wnt en su regulación. Luego, hemos evaluado la participación de ésta vía en la regulación transcripcional del gen COX-2.
Metodología Se realizaron ensayos de expresión en el tiempo del gen de COX-2 mediante RT-PCR en células MKN-45 (adenocarcinoma gástrico) y Caco2 (cáncer colorectal) estimuladas farmacológicamente (Litio y Valproato). Asimismo, se clonó el promotor de COX-2, conteniendo las secuencias TBE en el vector PGL-3 basic (luciferasa), el que fue cotransfectado con Wnt3a, LRP-6, β-catenina y/o TCF/LEF en células MKN-45 y HEK-293T, para medir actividad luciferasa 24 horas post-transfección. De igual forma, se estudió la unión de TCF/LEF al promotor por coinmunoprecipitación de cromatina (ChIP) y se realizó un análisis estadístico no paramétrico.
Resultados La expresión del gen COX-2 es inducida por estimulación farmacológica de la vía Wnt a tiempos tempranos. Los ensayos de gen reportero evidencian una activación del promotor vía Wnt/β-catenina. Finalmente, se determinó mediante ChIP la unión de TCF-4 al promotor de COX-2.
Conclusión El aumento en la expresión de COX-2 a tiempos tempranos, la activación de promotor y la unión de TCF-4, indican una contribución directa de Wnt en la regulación del gen COX-2 en los modelos estudiados.

Proyecto PBCT CTI-Salud

COMUNICACIONES LIBRES III

INTERACCIÓN *Trypanosoma cruzi*/HOSPEDERO VERTEBRADO: ¿ES TODO TAN MALO? (*Trypanosoma cruzi*/vertebrate hosts interactions: Is it all that bad?)
Arturo Ferreira Vigouroux. Programa de Inmunología. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. aferreir@med.uchile.cl

Objetivos Hemos aislado y caracterizado la calreticulina de *T. cruzi* (TcCRT) y definido que participa en un variedad de aspectos centrales de la interacción hospedero / parásito. Mediaría fenómenos autoinmunitarios, evasión de la respuesta inmune, infectividad y antiangiogénesis.
Metodología Hemos estudiado la reactividad de anticuerpos anti TcCRT con su contraparte humana y hemos realizado estudios electrocardiográficos e histológicos en animales inmunizados. Para intentar inhibir la interacción entre TcCRT y C1 del complemento humano (mecanismo evasor), se utilizan fragmentos F(ab')2 anti-TcCRT. En el ámbito de la antiangiogénesis, mediada por TcCRT y su dominio N-terminal, se realizó ensayos de morfogénesis *in vitro*, con células endoteliales de cordón umbilical humano (HUVECs), y ensayos *ex vivo*, cultivando anillos aórticos de rata.
Resultados Las IgG completas potenciaron la unión de C1q a TcCRT y los fragmentos $F(ab')_2$ la disminuyeron drásticamente. El suero de ratones inmunizados con TcCRT reaccionó con HuCRT, se detectó alteraciones en el electrocardiograma e histopatológicas en animales inmunizados. TcCRT inhibió fuertemente la angiogénesis en ensayos *in vitro* y *ex vivo*.
Conclusiones TcCRT: (a) inhibe a C1 y, por ende, la ruta clásica de activación del complemento humano; (b) mediaría fenómenos autoinmunes; (c) su interacción con C1q es inhibida , *in vitro* por fragmentos $F(ab')_2$ anti-TcCRT, (d) el efecto antiangiogénico de TcCRT no es especie-específico y explicaría , al menos en parte, la asociación entre infección tripanosómica y resistencia antineoplásica.

Financiamiento Proyecto Bicentenario de Anillos de Investigación ACT 29. CONICYT.

DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES FRIZZLED EN NEURONAS HIPOCAMPALES: POSIBLE ROL EN DIFERENCIACIÓN SINÁPTICA (Frizzled receptors distribution on hippocampal neurons: potencial role in synaptogenesis)
[1,2]**Lorena Varela-Nallar,** [1,2]Catalina Grabowski, [2]Alejandra Alvarez y [1,2]Nibaldo C. Inestrosa. [1]Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), [2]Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Objetivo La vía de señalización Wnt se activa por la unión de ligandos Wnt a sus receptores Frizzled (Fz). Recientemente, esta vía ha sido involucrada en diferentes procesos de diferenciación sináptica. El objetivo del presente trabajo fue establecer la localización de receptores Fz en neuronas hipocampales y analizar su potencial rol en la formación o modulación de contactos sinápticos.
Metodología La localización de receptores Fz fue analizada por inmunofluorescencia en cultivos primarios de neuronas hipocampales de rata. Además los cultivos fueron tratados con medios condicionados enriquecidos en ligandos Wnt. Por último, las neuronas fueron transfectadas con Fz1 para analizar el efecto de la sobreexpresión
Resultados Fz1 y Fz3 se localizan presinápticamente mientras que Fz2 está principalmente localizado en el soma y presenta una distribución difusa en neuritas. Wnt5a indujo la acumulación de agregados de Fz2 al mismo tiempo que indujo la acumulación de agregados de la proteína post-sináptica PSD-95. El Fz1 sobreexpresado en neuronas adquiere una distribución axonal y actualmente estamos evaluando su efecto en la formación de contactos sinápticos.
Conclusiones La distribución diferencial de los receptores Fz sugiere que la activación de la vía Wnt por ligandos específicos podría regular diferentes procesos neuronales. La vía activada por Fz1 y Fz3 podría estar operando a nivel presináptico mientras que la activación a través de Fz2 podría estar funcionando a nivel postsináptico.

Financiado por Proyecto Postdoctorado FONDECYT (N°3070017) y FONDAP (Nº13980001)

CORRELACIÓN DE REACCIONES DE DTH CONTRA UN LISADO DE MELANOMA CON UNA MAYOR SOBREVIDA Y ESTABILIDAD DE LA ENFERMEDAD EN PACIENTES CON MELANOMA TRATADOS CON TERAPIA CELULAR (Melanoma cell lysate-specific DTH reaction correlates with longer survival and disease stability in vaccinated melanoma patients)
Mercedes López, Cristian Pereda, Fermín González, Leonel Muñoz, Raquel Aguilera, Alexandra Ginesta, Carlos Ferrada, Milton Larrondo, Flavio Salazar-Onfray. Universidad de Chile, ICBM, Laboratorio Inmunología Antitumoral. melopez@med.uchile.cl

Objetivo: La inmunoterapia basada en células dendríticas (DC), es eficaz en pacientes con cáncer. Recientemente, hemos finalizado un estudio clínico fase II para el tratamiento de melanoma avanzado utilizando esta estrategia. Quisimos evaluar las respuestas inmunes y clínicas generadas en un período de cinco años.
Metodología: 36 pacientes con melanoma en etapa IV fueron inoculados con DC más KLH como adyuvante. Se evaluaron las respuestas inmunológicas mediante ELISPOT, y un ensayo *in vivo* de hipersensibilidad retardada (DTH) contra un lisado de melanoma. Las respuestas clínicas evaluadas fueron tiempo de estabilidad de la enfermedad, mediana de sobrevida y sobrevida total.
Resultados: Después de la vacunación, el 50 % de los pacientes tratados mostraron DTH mayor a 5 mm de diámetro. Se establecieron correlaciones significativas entre pacientes con DTH positivas y la estabilidad de la enfermedad. La mediana de de sobrevida en los pacientes tratados fue de 26 meses a contar de la vacunación, lo que es superior a la sobrevida histórica de alrededor de 7 meses.
Conclusiones: Nuestros datos sugieren que la inmunoterapia basada en células dendríticas, es biológicamente segura para su uso en pacientes, no causa reacciones adversas, y produce una sobrevida mayor en los pacientes con melanoma en etapa IV, lo que valida este tratamiento como una alternativa a los tratamientos tradicionales para esta enfermedad.

Fondecyt 1070559 y Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia.

PAPEL DE LOS RECEPTORES P2X Y HEMICANALES EN LA ADQUISICIÓN DE COMPROMISO MIOGÉNICO TEMPRANA EN CÉLULAS C_2C_{12} (Role of P2X receptors and hemichannels during early myogenic commitment in C_2C_{12} cells) **Manuel A. Riquelme,** Carolina Gatica, Roberto Araya,*Enrique Jaimovich y Juan C. Sáez. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica y *Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile, Santiago, Chile. manuel.riquelme@gmail.com

Objetivo: Durante la miogénesis se activa el factor de transcripción Six1 que induce expresión del marcador miogénico MyoD. En el presente trabajo estudiamos si la translocación de Six1 al núcleo y los niveles de MyoD dependen de la $[Ca^{2+}]_i$, receptores P2X (P2XR) y/o hemicanales.
Metodología: En células C_2C_{12} de reserva incubadas en medio inductor de la adquisición de compromiso se evaluó la localización celular y reactividad de Six1 y MyoD (inmunoflorescencia). El estado funcional de los P2XR y hemicanales se evaluó mediante captación de colorante y la comunicación intercelular mediada por uniones en hendidura se evaluó con la técnica de transferencia de colorante. La $[Ca^{2+}]_i$ se evaluó con Fluo-3.
Resultados: Mientras los P2XR y hemicanales funcionales se detectaron desde el inicio del cultivo, los canales de uniones en hendidura funcionales se detectaron después de las primeras 12h de cultivo. La activación de P2XR aumentó la $[Ca^{2+}]_i$, indujo translocación de Six1 al núcleo y aumentó los niveles de MyoD, cambios que no se afectaron con la inhibición de hemicanales. El bloqueo de los P2XR o de los hemicanales previno el aumento de los niveles de MyoD.
Conclusión: La adquisición de compromiso miogénico requiere inicialmente la activación de P2XR, hemicanales funcionales y acción paracrina del ATP, posteriormente coordinada por canales de uniones en hendidura.

FONDECYT 1030945.

REGULACIÓN EPIGENÉTICA DEL PROMOTOR P1 DEL GEN RUNX2 EN CÉLULAS OSTEOBLÁSTICAS (Epigenetic regulation of the RUNX2 gene P1 promoter in osteoblastic cells) **Berta Henríquez**, Matías Hepp, Fernando Cruzat, Juan Olate y Martín Montecino. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. bhenriqu@udec.cl.

Objetivo Se ha determinado que cuando células pluripotenciales son incubadas con morfógenos como BMP-2, se incrementa la expresión de genes osteoblásticos y de la isoforma II del gen RUNX2, sugiriendo que sería esta la isoforma asociada a la diferenciación osteoblástica. Hemos observado que este incremento en la expresión involucra remodelamiento cromatínico, el cual es independiente de complejos remodeladores de cromatina del tipo SWI/SNF. En este trabajo nos propusimos estudiar si mecanismos epigenéticos específicos promueven la regulación transcripcional de RUNX2. En particular, evaluamos modificaciones covalentes en histonas H3 y H4 asociadas al promotor P1 del gen.
Metodología Se realizaron estudios de Inmunoprecipitación de Cromatina (ChIP) acoplados a cuantificación por PCR en tiempo real en las líneas celulares de rata ROS17/2.8 y H-4-II-E. Estas representan estados transcripcionales activos e inactivos del gen, respectivamente.
Resultados Se determinó un patrón diferencial de modificaciones covalentes en las histonas H3 y H4 asociadas al promotor P1 del gen RUNX2, dependiendo del estado transcripcional. Cuando el gen está activo observamos un aumento en la acetilación de la histona H3, específicamente de la Lisina 9, y una alta trimetilación de la Lisina 4 en la misma histona. Interesantemente, cuando el gen está inactivo observamos una alta acetilación de la histona H4, acompañado de mono y trimetilación de la Lisina 9 en la histona H3.
Conclusiones Nuestros resultados indican que mecanismos epigenéticos contribuyen a la regulación de la actividad transcripcional del gen RUNX2 en células osteoblásticas.

Beca de Apoyo Tesis Doctoral CONICYT AT-24060130

LAS CININAS, MEDIADORES DE ADHESIÓN CELULAR (The kinins, cellular adhesion mediators) **Ehrenfeld Ingrid**, Pavicic MF, Matus CE, Aguilar M, Astroza, A., Figueroa CD. Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia. ingridehrenfeld@uach.cl

Objetivos çLas células endoteliales humanas expresan receptores B_1 (RB_1) y B_2 (RB_2) de cininas que median el aumento de la permeabilidad vascular y la producción de oxido nítrico. Nos propusimos evaluar la participación de agonistas de ambos receptores en la expresión de la molécula de adhesión ICAM-1 así como las vías de señalización involucradas.
Metodología Se utilizó la línea de células endoteliales humanas EA.hy926 y se determinó la expresión de ambos receptores por RT-PCR, *Western blot*, inmunocitoquímica, unión de ligandos tritiados y movilización de Ca^{2+} intracelular. Se realizó ensayos de fosforilación de la vía MAPK ERK1/2 y se evaluó si estos receptores inducen o regulan la expresión de ICAM-1. Finalmente, se realizó ensayos de adhesión de leucocitos neutrófilos a monocapas de células endoteliales, pretratadas con agonistas de ambos receptores, para evaluar la capacidad funcional de ICAM-1.
Resultados Ambos receptores de cininas son expresados en la célula endotelial EA.hy926. Solo la estimulación con el agonista del RB_2 indujo un aumento del Ca^{2+} intracelular, pero los agonistas de ambos receptores activaron ERK1/2 y aumentaron los niveles de expresión del mRNA y de la proteína ICAM-1. En el ensayo de adhesión, la monocapa de células endoteliales confluentes, estimuladas con el agonista B_1 mostró gran adhesividad por neutrófilos pre-estimulados con TNFα. Esta adhesividad desapareció cuando la monocapa fue pretratada con el antagonista respectivo o con un anticuerpo dirigido contra ICAM-1.
Conclusiones Estos resultados sugieren que las cininas serían importantes mediadores del tráfico de leucocitos desde la circulación hacia el sitio de daño o infección.

Financiado por DID-UACh 2005-10, FONDECYT 1070398

COMUNICACIONES LIBRES IV

REGULATION OF THE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE AND ORGANELLE PHYSIOLOGY BY COMPONENTS OF THE APOPTOSIS MACHINERY (Regulación de la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) y la fisiología de organelos por componentes de la maquinaria apoptótica) F. Lisbona[1], R. Rojas[1], S. Matus[1], S. Korsmeyer[2], L. Glimcher[3] and **Claudio Hetz**[1,2,3]. [1]Instituto de Ciencias Biomédicas, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile, Chile; [2]Howard Hughes Medical Institute, Dana–Farber Cancer Institute, USA; [3]Department of Immunology and Infectious Diseases, Harvard School of Public Health, Boston, USA. chetz@med.uchile.cl (Patrocinio: L. Leyton).

Aims: Study the role of apoptosis-related protein in the UPR
Background: Accumulation of misfolded protein in the endoplasmic reticulum (ER) triggers an adaptive stress response—termed the unfolded protein response (UPR)—mediated by the ER transmembrane protein kinase and endoribonuclease inositol-requiring enzyme–1α (IRE1α). IRE1α transduces stress signals to the nucleus by controlling the expression of the transcription factor XBP-1. To restore ER homeostasis, XBP-1 mediates the upregulation of crucial UPR-related genes involved in folding, secretion, protein quality control.
Methods: We investigated UPR signaling events in cells and mice in the absence of the proapoptotic BCL-2 family members BAX and BAK (DKO).
Results: DKO mice responded abnormally to tunicamycin-induced ER stress in the liver, with extensive tissue damage and decreased expression of the XBP-1 and its target genes. ER-stressed DKO cells showed deficient IRE1α signaling. BAX and BAK formed a protein complex with IRE1α that was essential for IRE1α activation. In addition, we have identified a new regulatory component of the IRE1α complex, termed Bax-inhibitor-1 (BI-1). BI-1 deficient cells showed a hyper-activation of IRE1 under ER stress conditions due to a direct protein interaction.
Conclusions: Apoptosis-related proteins function at the ER membrane to modulate IRE1α signaling, providing a physical link between members of the core apoptotic pathway and the UPR. (Supported by Fondecyt #1070444 and High Q Foundation).

PAPEL DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS EN LA PATOGÉNESIS DEL LUPUS (Rol of dendritic cells in the pathogenesis of lupus) **Alejandra Gleisner[1],** Paz Reyes[2], Jennifer Alfaro[1], Leonardo Vargas[1], Valeska Simon[1], Mario Rosemblatt[1,2,3], María Rosa Bono[1]. [1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, [2] Universidad Andrés Bello, [3]Fundación Ciencia para la Vida. alejandragleisner@yahoo.es

Objetivo Estudiar la funcionalidad de las células dendríticas (DCs) y los linfocitos T reguladores en 2 modelos de ratón que desarrollan lupus.
Metodología Utilizamos dos modelos de ratones (NZBxNZW y NZM2410) que desarrollan lupus espontáneamente. Como control utilizamos ratones NZWxBalb/c. Evaluamos por ELISA la secreción de IL-10 en DCs tratadas con diferentes estímulos bacterianos (n=9), y autoanticuerpos en el suero de los ratones (n=15). Determinamos por FACS valores absolutos de linfocitos Tregs (CD4+/CD25+/Foxp3+) en médula ósea y bazo de ratones controles y lúpicos (n=7). Se realizaron ensayos de adhesión de linfocitos a estromas normal ó lúpico (n=2).
Resultados Demostramos que DCs de bazo de ratones lúpicos NZBxNZW secretan altas concentraciones de IL-10 en respuesta a CpG y LPS, comparadas con DCs de ratones NZM2410 y controles. Sin embargo, DCs generadas in vitro a partir de médula ósea de ratones lúpicos no muestran diferencias. Por otra parte, los ratones lúpicos NZBxNZW producen grandes cantidades de autoanticuerpos comparado a ratones NZM2410. Los ratones NZBxNZW, poseen un menor número de linfocitos Tregs en la médula ósea (respecto al control) pero estos se adhieren en mayor proporción al estroma de médula ósea.
Conclusión Nuestros resultados muestran que el microambiente de la médula ósea afecta tanto a las células dendríticas como a los linfocitos Treg y que la naturaleza de éste podría afectar el desarrollo de la enfermedad

(Financiado por Fondecyt 1060834/1060253).

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE MEGALINA POR AGONISTAS DE FXR Y PPARs (Megalin expression regulation by FXR and PPARs agonists) **Bárbara Ramos**, Silvia Zuñiga, Meenakshisundaram Ananthanarayanan, Marco Arrese, Miguel Bronfman, María Paz Marzolo. Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología (CRCP), Facultad de Ciencias Biológicas, PUC. barbara.ramos@gmail.com

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

(Fondecyt 1070373, Fondap 13980001)

LA VIDA MEDIA DE INTERACCIÓN TCR/pMHC DETERMINA LA FORMACIÓN Y NATURALEZA DE LA SINAPSIS INMUNOLÓGICA (The half-life of TCR/pMHC interaction determines the assembly and nature of the immunological synapse) **Leandro J. Carreño[1],** Erick M. Riquelme[1], Nicolas Espagnolle[3], Salvatore Valitutti[3] y Alexis M. Kalergis[1,2]. [1]Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy, Facultad de Ciencias Biológicas, [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile, [3]INSERM-U563, Institut Claude de Preval, Toulouse, France. akalergis@bio.puc.cl

Objetivos. La activación de la célula T depende de la interacción entre su receptor, TCR, y su ligando pMHC. Anteriormente observamos que se necesita una $t_{1/2}$ óptima de interacción TCR/pMHC para la activación de la célula T. Sin embargo, el mecanismo responsable de esto aún es desconocido. En este trabajo, hemos evaluado la importancia de la $t_{1/2}$ de interacción TCR/pMHC en la formación y naturaleza de la sinapsis inmunológica, una estructura especializada en señalización fundamental para la activación de la célula T.
Metodología. Purificamos células T desde ratones transgénicos OT-I y las cultivamos con células dendríticas pulsadas con péptidos derivados de la proteína Ovoalbumina con mutaciones que confieren distintas $t_{1/2}$ de interacción TCR/pMHC. Posteriormente, determinamos la formación de sinapsis inmunológica mediante microscopia confocal y time-lapse video.
Resultados. Notablemente, antagonistas de $t_{1/2}$ corta o agonistas de $t_{1/2}$ óptima inducen una eficiente formación de sinapsis inmunológica, mientras que ligandos de $t_{1/2}$ prolongada no. Sin embargo, sólo ligandos de $t_{1/2}$ óptima inducen el reclutamiento eficiente de moléculas de señalización hacia la sinapsis inmunológica.
Conclusiones. Nuestros resultados sugieren que la formación y actividad de la sinapsis inmunológica es determinada por la $t_{1/2}$ de interacción TCR/pMHC. Estas observaciones apoyan un nuevo mecanismo de modulación del ensamblamiento y función de la sinapsis inmunológica.

Financiamiento: Fondecyt 1070352, CONICYT-INSERM e ICM.

LA HIPERTROFIA O MUERTE DEL CARDIOMIOCITO GATILLADA POR HIERRO DEPENDE DE LOS NIVELES DE ROS Y ÓXIDO NÍTRICO (Cardiomyocyte hypertrophy or death triggered by iron depends of ROS and nitric oxide**)** **Juan Pablo Muñoz,** Hernán Alcaino, Marco Tulio Núñez, Cecilia Hidalgo, Sergio Lavandero. Centro FONDAP CEMC e Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile. jpmunoz@ciq.uchile.cl

Objetivo: Investigar cómo la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y óxido nítrico (NO), generado por vía de la NO sintasa inducible (iNOS), regula la muerte e hipertrofia del cardiomiocito gatillada por hierro (Fe).
Métodos: Cardiomiocitos de rata se trataron con Fe-NTA (20-60 μM). La formación de ROS y NO se evaluó con los indicadores fluorescentes DCF y DAF, respectivamente. La muerte celular se determinó por MTT, liberación de LDH y condensación de la cromatina; hipertrofia cardiaca por morfometría; niveles proteicos y del mRNA de iNOS por Western blot y RT-PCR. La formación de ROS y de NO se bloqueó por sobrexpresión de catalasa o uso de 1400W (inhibidor especifico de iNOS).
Resultados Los cardiomiocitos tratados con Fe-NTA (20-60 μM) incrementaron la formación de ROS y NO. A bajos niveles de hierro (Fe-NTA 20 μM), los cardiomiocitos se hipertrofiaron, aumentaron su sobrevida y disminuyeron los niveles totales de NO. En cambio, niveles elevados de hierro indujeron su muerte y degradación de iNOS, con pérdida de su localización citoplasmática. La inhibición de iNOS con 1400W bloqueó el recambio de iNOS y el efecto prohipertrófico del hierro. La sobrexpresión de catalasa indujo hipertrofia del cardiomiocito, aumentó su sobrevida, disminuyó los niveles de iNOS pero incrementó los de NO.
Conclusiones El hierro estimuló hipertrofia y muerte del cardiomiocito de manera dependiente de ROS y NO. Este tipo de hipertrofia dependió de la actividad y localización de iNOS en el cardiomiocito.

Proyectos FONDECYT postdoctorado 152003 (JPM), Milenio ICDB (MTN), FONDAP 1501006 (CH/SL)

EL CO-TRANSPORTADOR DE SODIO-ASCORBATO 2 (SVCT2) SE EXPRESA EN FIBRAS MUSCULARES LENTAS DURANTE EL DESARROLLO DE POLLO (Sodium vitamin C co-transporter 2 (SVCT2) is expressed in slow-twitch muscle fibres during chick myogenesis) **Marcela Low**, Bryan Morales, Evelyn Avilés, Daniel Sandoval, Francisco Nualart, Juan Pablo Henríquez. Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Concepción, Chile. jhenriquez@udec.cl

Objetivos: La vitamina C es un antioxidante esencial. El ácido ascórbico es incorporado a las células por los transportadores de sodio-ascorbato SVCT (SVCT-1 y -2). Aun cuando el 40% del ascorbato del organismo es almacenado en músculos esqueléticos, no se ha descrito la expresión de SVCTs en este tejido. En este trabajo estudiamos la expresión de SVCT2 en músculo esquelético embrionario utilizando como modelo el pollo.
Metodología: Se secuenció el mRNA de una proteína predicha de pollo con alta homología a SVCT2 de ratón. Se disectaron las extremidades posteriores de embriones de pollos durante el desarrollo (HH27-HH45) y se determinó la expresión de SVCT2 por RT-PCR, Western blot e inmunohistoquímica en criosecciones de tejido. Además, se realizaron marcaciones dobles con anticuerpos específicos para miosinas y Ca-ATPasas de fibra lenta y rápida.
Resultados: Tanto el análisis *in silico* como la secuenciación arrojaron una proteína de pollo con alta homología a SVCT2 de ratón. Tanto el mRNA como la proteína SVCT2 se expresan durante la miogénesis de embriones de pollo. Estudios de co-localización con marcadores de fibra muscular rápida y lenta mostraron la localización de SVCT2 en músculos lentos.
Conclusiones: Su expresión en fibras musculares esqueléticas lentas sugiere que SVCT2 mediaría la captación de ascorbato, lo que sería relevante respecto a la naturaleza oxidativa de este tipo de fibras musculares.

(Financiado por Proyecto Anillo ACT-02).

COMUNICACIONES LIBRES V

LA INTERACCIÓN DEL RECEPTOR DE $1\alpha,25(OH)_2D_3$ CON LA MATRIZ NUCLEAR ES INDEPENDIENTE DE SU ASOCIACIÓN CON CO-REGULADORES TRANSCRIPCIONALES (The interaction of the $1\alpha,25(OH)_2D_3$ receptor with the nuclear matrix is independent of its association with transcriptional co-regulators) Gloria Arriagada, Juan Olate, **Martín Montecino.** Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. mmonteci@udec.cl

Objetivo Hemos descrito previamente que el receptor de $1\alpha,25(OH)_2D_3$ (VDR) interacciona con la matriz nuclear en forma ligando dependiente. En este trabajo determinamos si el residuo de serina 51 de VDR, que es fosforilado por PKC y que regula la unión del receptor al ADN, contribuye también a modular su interacción con otros reguladores transcripcionales claves y su asociación a la matriz nuclear.
Metodología Realizamos mutación sitio dirigida del residuo serina 51 de VDR humano reemplazándolo por alanina, glicina o aspártico. Expresamos estas versiones mutadas de VDR como proteínas recombinantes en bacterias y analizamos su capacidad de unirse a ADN mediante EMSA y de interaccionar con otras proteínas co-reguladoras mediante ensayos de GST-*pull down*. Además expresamos las diferentes versiones de VDR en fusión a GFP en células osteblásticas y analizamos *in situ* su capacidad de asociarse a la matriz nuclear.
Resultados Mutaciones en el residuo de serina 51 inhiben la unión de VDR al ADN y afectan su capacidad de interaccionar con el factor de transcripción Runx2 o con el receptor RXRα. Además, estas mutaciones reducen la asociación de VDR con los co-activadores SRC-1 y DRIP205. Interesantemente, estas mutaciones no afectan la capacidad de VDR de interaccionar en forma ligando dependiente con la matriz nuclear.
Conclusiones VDR se asocia a la matriz nuclear en forma ligando dependiente e independientemente de la unión del receptor al ADN o a co-reguladores transcripcionales.

LOS TRANSPORTADORES DE UDP-GLUCOSA AtUTr1 y AtUTr3 SON ESENCIALES PARA EL DESARROLLO DEL POLEN EN *Arabidopsis thaliana* (UDP-Glucose transporters AtUTr1 and AtUTr3 are essential for pollen development in *Arabidopsis thaliana*) **Gabriel León,** Francisca Reyes y Ariel Orellana. Núcleo Milenio de Biología Celular Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello. aorellana@unab.cl

Objetivos Previamente hemos determinado que AtUTr1 es una proteína de retículo endoplásmico, mientras AtUTr3 muestra una ubicación dual, encontrándose en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi. En este trabajo quisimos determinar el papel fisiológico de ambos transportadores en *Arabidopsis thaliana* mediante la generación y análisis de plantas mutantes.
Metodología Se generaron plantas dobles heterocigotas en ambos transportadores (*AtUTr1/atutr1 AtUTr3/atutr3*) cruzando plantas homocigotas mutantes en *atutr1* con plantas homocigotas mutantes en *atutr3*. En la descendencia de estas plantas doble heterocigotas realizamos análisis genéticos, microscópicos y funcionales de los granos de polen.
Resultados Conseguimos identificar plantas homocigotas mutantes en un gen y heterocigotas en el otro; sin embargo, no logramos identificar individuos doble homocigotos mutantes. Además, la segregación de las mutaciones durante la autofecundación y en cruces recíprocos con plantas silvestres resultó distorsionada, indicando que la combinación haploide *atutr1 atutr3* es letal para el desarrollo y/o la función del polen. Los análisis microscópicos nos permitieron identificar una serie de anormalidades estructurales, defectos en el contenido citoplámico y muerte del polen en estas plantas.
Conclusione El desarrollo de la línea germinal masculina en Arabidopsis thaliana requiere de la presencia de al menos una copia silvestre de AtUTr1 o AtUTr3, demostrando formalmente que ambos transportadores tienen una función parcialmente redundante y esencial para el desarrollo del polen en Arabidopsis thaliana.

Financiado por proyectos FONDECYT 1030551, 1070379 y Núcleo Milenio PCB-P02-009F

DINÁMICA CELULAR Y FUNCIÓN DE GLUCOQUINASA EN CONDICIONES DE HIPERGLICEMIA (Cellular dynamic and brain GK function in hyperglycemic conditions) **Carola Millán,** Fernando Martínez, Christian Cortés, María José Yañez, Isabel Lizama, Francisco Nualart y María de los Angeles García. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción.

Objetivos Glucoquinasa (GK) es una enzima fundamental en el mecanismo sensor de glucosa. GK ha sido detectada en el cerebro a nivel de glia y neuronas. Actualmente, se desconoce la función glial de GK y su dinámica celular en condiciones de hiperglicemia. En este sentido, GK glial estaría relacionada con la génesis de la respuesta de saciedad. Determinamos la dinámica celular y función de GK en condiciones de hiperglicemia. Evaluamos el efecto de la inhibición de GK glial a través de RNAi.
Metodología Utilizamos hibridación in situ, qRT-PCR, western blot e inmunofluorescencia asociada a microscopía confocal para definir la expresión y localización de GK glial a nivel del hipotálamo en condiciones de hipo e hiper-glicemia. Además, se utilizó cultivo celular para analizar la dinámica de esta enzima en las diferentes condiciones de cultivo. Finalmente, se utilizó un adenovirus inhibidor (Ad-GK-siRNA) inyectado estereotáxicamente en el cerebro para inhibir la función glial de GK.
Resultados. GK se encuentra ampliamente expresada en la glia hipotalámica, además, co-localiza con GLUT2. *In vivo* e *in vitro*, demostramos que las células gliales compartimentalizan la enzima en el núcleo bajo condiciones de hiperglicemia. Ad-GK-siRNA inyectado en el ventrículo cerebral incrementa marcadamente la ingesta alimenticia.
Conclusiones La glia ventricular hipotalámica participa en el mecanismo sensor de glucosa regulando la ingesta alimenticia a través de la expresión de GK
.
Proyecto Anillo ACT-02

GLIPICÁN REGULA LA DIFERENCIACIÓN MUSCULAR ESQUELÉTICA SECUESTRANDO A FGF-2 EN BALSAS LIPÍDICAS (Glypican regulates skeletal muscle differentiation sequestering FGF-2 in lipid rafts) **Jaime Gutiérrez,** Enrique Brandan. Laboratorio de Diferenciación Celular y Patología, FONDAP-CRCP, MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Objetivos Los proteoglicanes de heparán sulfato (PGHS) unen y regulan la actividad de FGF-2, un potente inhibidor de la diferenciación muscular. Glipicán es un PGHS anclado a la membrana a través de un tallo de glicosil-fosfatidil-inositol (GPI), sugiriendo su asociación a balsas lipídicas. Evaluamos la distribución de los PGHS y receptores de FGF-2 (FGF-Rs) en la membrana de mioblastos y el rol de glipicán en señalización de FGF-2 y diferenciación muscular.
Metodología: La distribución de PGHS y FGF-Rs en la membrana de mioblastos se estudió por fraccionamiento en gradientes de densidad e inmunofluorescencia. En mioblastos transfectados con un siRNA especifico para glipicán o clones estables que no expresan glipicán (Gli-), se evaluó la sensibilidad celular a FGF-2, la unión del factor a sus receptores y el requerimiento de glipicán para el proceso de diferenciación. Además se evaluó la sensibilidad celular a FGF-2 en mioblastos tratados con Metil-beta-ciclodextrina (MβCD), droga que altera la estructura de las balsas lipídicas.
Resultados: Glipicán se asocia a balsas lipídicas, a diferencia de los FGF-Rs y otros PGHS, co-receptores de FGF-2. Mioblastos transfectados con un siRNA para glipicán o mioblastos Gli- presentan una mayor unión del factor a los FGF-Rs que mioblastos control, lo que se traduce en una mayor señalización, junto a una inhibición de la diferenciación muscular. Por otra parte el tratamiento con MβCD produce un aumento en la respuesta al factor.
Conclusiones: Estos resultados sugieren que glipicán inhibe la interacción de FGF-2 con los FGF-Rs de alta afinidad secuestrándolo en microdominios de membrana, permitiendo la miogénesis.

Financiamiento: Fondap CRCP y MIFAB

ADAM17 ES UN REGULADOR CLAVE DEL PROCESAMIENTO DEL RECEPTOR DE NEUROTROFINAS p75 INDUCIDO POR LA ACTIVACIÓN DE TrkA. ¿UN NUEVO MECANISMO DE REGULACIÓN DE LA SEÑAL NEUROTRÓFICA? (ADAM17, a key regulator of p75 processing induced by TrkA activation. A new neurotrophin signaling mechanism? **Soledad Urra**[1], Edgardo Allende[1], Willem Annaert[2] y Francisca C Bronfman[1]. [1]Centro de Regulación Celular y Patología (FONDAP), Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, [2]Membrane Trafficking Laboratory, KULeuven/VIB4, Belgium. murragamboa@gmail.com

El receptor de neurotrofinas p75, (p75) participa en varios aspectos de la señalización neurotrófica. El tráfico endocítico y el procesamiento proteolítico son eventos cruciales que regulan la señalización de p75. p75 es procesado en su ectodominio por metaloproteasas que generan un fragmento de transmembrana carboxilo terminal (p75-CTF). p75-CTF es procesado por el complejo γ-secretasa generando un fragmento soluble intracelular (p75-ICD). Sin embargo, se desconoce si las neurotrofinas regulan el procesamiento de p75 y la localización subcelular de este proceso. **Objetivo**: Determinar el mecanismo de regulación del procesamiento de p75 inducido por neurotrofinas. **Metodología**: El análisis del procesamiento de p75 se realizó mediante fraccionamiento subcelular y ensayos de inmunoblot en células PC12 y neuronas hipocampales de rata infectadas con SFV-p75 (Semiliki forest virus para p75).
Resultados: Hemos demostrado que ADAM17, a través de la activación de TrkA por NGF induce el procesamiento del ectodominio de p75 generando un fragmento p75-CTF que es internalizado en endosomas y procesado por el complejo γ-secretasa. Más aún, resultados preliminares de fraccionamiento subcelular indican un procesamiento endosomal del ectodominio de p75.
Conclusiones: Estos resultados demuestran que NGF regula y coordina finamente el tráfico endocítico y el procesamiento del receptor, dos eventos claves en la regulación de la señal neurotrófica mediada por p75.

FONDECYT1040799, CRCP, Flemish-Chilean Bilateral Agreement.

GENERACIÓN DE UN RATÓN GENÉTICAMENTE MODIFICADO PARA EL ESTUDIO DEL METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN ASTROCITOS (Generation of a genetically modified mouse for the study of glucose metabolism in astrocytes) **Anitzi Loaiza[1,2],** Juan Young[1], L. Felipe Barros[1]. [1]centro De Estudios Científicos y [2]universidad Austral De Chile. anitsi@cecs.cl

Objetivos No existen en la actualidad métodos para el estudio in vivo del metabolismo cerebral de la glucosa a nivel celular. Tampoco existen métodos disponibles para la medición local de la permeabilidad a glucosa de la barrera hemato-astrocitaria, una variable que es probablemente modulada por la actividad neuronal. Con estos objetivos en mente nos propusimos generar un ratón cuyos astrocitos expresen un nanosensor FRET de glucosa.
Metodología Se generó un vector plasmidial que contiene el promotor astrocito-específico Gfa2, seguido de la secuencia que codifica para el nanosenor FLIP600μ–Δ11 y de una señal para poliadenilación. Luego de comprobarse la expresión funcional del sensor en astrocitos en cultivo primario, el transgen fue microinyectado en cigotos de ratón, obteniéndose nueve líneas transgénicas.
Resultados El análisis por inmunofluorescencia indirecta de rebanadas de cerebro demostró la expresión del sensor en una de las cinco líneas analizadas a la fecha. La señal reveló un patrón característico de astrocitos y se distribuyó en todo el encéfalo, siendo la expresión particularmente fuerte en la capa molecular de la corteza cerebelosa, mostrando el patrón característico de la glia de Bergmann. No se detectó expresión aparente en neuronas.
Conclusiones Se ha generado un ratón que expresa un nanosensor FRET de glucosa en astrocitos cerebrales. Actualmente se están obteniendo homocigotos para aumentar el nivel de expresión a niveles compatibles con su detección en rebanadas agudas e in vivo**.**

COMUNICACIONES LIBRES VI

E-CADHERIN IS REQUIRED FOR CAVEOLIN-1-MEDIATED DOWN-REGULATION OF THE INHIBITOR OF APOPTOSIS PROTEIN SURVIVIN VIA REDUCED β-CATENIN-Tcf/Lef-DEPENDENT TRANSCRIPTION (Caveolina-1 requiere de E-caderina para regular negativamente a survivina via reducción de la transcripción dependiente de β-catenina-Tcf/Lef). Vicente Torres, Julio Tapia, Diego Rodriguez, Alvaro Lladser, Cristian Arredondo, Lisette Leyton and **Andrew Quest**. FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. aquest@med.uchile.cl

Objective Caveolin-1 acts at least in part as a tumor suppressor by reducing survivin expression via a β-catenin-Tcf/Lef-dependent transcriptional pathway. However, this mechanism is not operative in all cells. The objective of this study was to identify the molecular mechanisms underlying such radical differences.
Methodology Subcellular localization of E-cadherin, β-catenin, caveolin-1 and survivin were analyzed by confocal microscopy and subcellular fractionation. Survivin mRNA and protein levels were determined by quantitative or conventional RT-PCR and Western blotting, respectively. Transcriptional activity of β-catenin was evaluated using a Top/Fop-Flash reporter assay. Cells were transfected with an E-cadherin encoding plasmid (pBATEM) using Superfect® reagent. Cell viability and apoptosis were determined by the MTS® assay and flow cytometry.
Results Unlike HT29(ATCC) cells, metastatic HT29(US) cells expressed low amounts of E-cadherin that localized to the cytoplasm rather than the plasma membrane and ectopic expression of caveolin-1 neither modulated β-catenin-Tcf/Lef-dependent transcription or survivin expression. Re-expression of E-cadherin in HT29(US) cells restored the ability of caveolin-1 to down-regulate both β-catenin-Tcf/Lef-dependent transcription as well as survivin mRNA and protein levels. Additionally, co-immunoprecipitation and co-localization between caveolin-1 and β-catenin increased upon E-cadherin expression. In HEK293T and HT29(US) cells, caveolin-1 and E-cadherin cooperated in suppressing β-catenin-Tcf/Lef-dependent transcription and survivin expression.
Conclusions Absence of E-cadherin severely compromises the ability of caveolin-1 to develop activities potentially relevant to its role as a tumor suppressor.

Supported by Conicyt PhD Fellowships (VT, DR, AL), Fondecyt 3050037 (JT), Fondecyt 1040390 (LL), and FONDAP 15010006 (AQ).

INDUCCION DE FILOPODIAS Y PROCESOS EN LÍNEAS NEURONALES QUE SOBRE-EXPRESAN TRANSPORTADORES DE VITAMINA C. (Induction of filopodia and processes outgrowth in neuronal cells lines that overexpress sodium-vitamin C co-transporters). **Katterine Salazar***, Milka Martínez, Francisco Nualart. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción. ksalazar@udec.cl.

Objetivos Diferentes evidencias sugieren que la vitamina C promueve la maduración funcional de neuronas post-natales. La incorporación de vitamina C es mediada por los transportadores SVCT1 y SVCT2. Actualmente, se desconoce la función de estos transportadores en la diferenciación neuronal. De esta forma, hemos analizado la inducción *in situ* de SVCT2 en la corteza cerebral y el efecto de la sobre-expresión de SVCT2 y SVCT1 en la diferenciación de las líneas neuronales N2A y HN33.11.
Metodología Definimos la expresión de SVCT2 mediante inmunohistoquímica en la corteza cerebral post-natal (P1-P15). Subclonamos los transportadores de vitamina C (SVCT2wt, SVCT1wt y SVCT2sh-dominante negativo) en vectores que expresan YFP y analizamos su función al sobreexpresarlos en líneas neuronales suplementadas o no con vitamina-C. El análisis se realizó mediante microscopía confocal (morfometría), *Western blot* y estudios cinéticos.
Resultados Durante los días P1-P5, SVCT2 aumenta su expresión en neuronas corticales. A una baja concentración de ácido ascórbico, la sobre-expresión de SVCT2, pero no de SVCT1, induce un 68% de células con filopodias y un 40% de células con procesos. Solamente altas concentraciones de ácido ascórbico inducen filopodias al sobreexpresar SVCT1. La sobre-expresión de SVCT2sh y el transportador GLUT1, no inducen crecimientos de filopodias y/o procesos en N2A y HN33.11.
Conclusiones
La diferenciación post-natal de neuronas esta asociada a un incremento en la expresión de SVCT2.

Proyecto Anillo ACT-02, *Becaria CONICYT.

FUNCIÓN DEL HIALURONANO EN LA REGENERACIÓN DE LA COLA DE RENACUAJOS DE *Xenopus laevis*. (Role of Hyaluronan in *Xenopus* tail regeneration) **Contreras, E.**, Carrasco, H., Sánchez, N., Larraín, J. FONDAP-CRCP, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. eocontre@uc.cl

Objetivo Los renacuajos de *Xenopus laevis* poseen una enorme capacidad regenerativa que incluye a las extremidades, cola, lente y retina; convirtiéndolos en un excelente modelo para estudiar los mecanismos básicos de regeneración tisular. La regeneración de cola involucra la reestructuración de tejidos complejos como músculo, notocorda, médula espinal (regeneración neuronal), epidermis y vasos sanguíneos. Nos hemos propuesto estudiar el rol del Hialuronano (HA) durante la regeneración de cola. El HA es un glicosaminoglicán presente en la matriz extracelular que es capaz de modular vías de señalización y procesos de migración celular.
Metodología Se anestesiaron y cortaron colas de renacuajos de *Xenopus* en estadíos regenerativos (estadío 40/43 y 48/50) y en el periodo refractario a la regeneración (estadío 46/47).
Resultados Análisis por RT-PCR e hibridación *in situ* muestran un aumento, durante la regeneración, de los niveles de mRNA para los genes que codifican para componentes de la vía del HA, como la hialuronano sintasa 2, los principales receptores del HA: CD44 y RHAMM, y la hialuronidasa 2. Por el contrario no se observó un cambio en los niveles de mRNA de estos genes durante el periodo no regenerativo. La regeneración fue inhibida cuando se incubaron renacuajos durante el primer día post corte con 4-Metilumbeliferona, un inhibidor químico de la síntesis de HA.
Conclusiones Existe un aumento en los componentes de la señalización del HA y la síntesis del HA es necesaria para la correcta regeneración de la cola.

AUTOANTICUERPOS CONTRA UNA NUEVA PROTEÍNA NEURONAL EN LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO: CORRELACIÓN CON MANIFESTACIONES NEUROPSIQUIÁTRICAS. (Autoantibodies against a novel neuronal protein in Systemic Lupus Erythematosus: correlation with neuropsychiatric manifestations). **Bravo-Zehnder M.**[1,4,5], Matus S.[1,4,5], Achurra P.[1], Jarpa E.[1], Calderón J.[2], Babul M.[2], Quintana J.[3], Jacobelli S.[1], González M.[2], Massardo L.[1], González A.[1,4,5]. Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología[1], Departamento de Psiquiatría[2], Departamento de Radiología[3], Facultad Medicina. Centro de Regulación Celular y Patología, J.V. Luco[4]. Pontificia Universidad Católica de Chile y MIFAB[5], Santiago, Chile.

Pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) frecuentemente tienen compromiso del Sistema Nervioso Central, incluyendo manifestaciones neuropsiquiátricas (LES-NP), tales como psicosis, y desarrollan autoanticuerpos contra proteínas P ribosomales (anti-P) entre otros. En nuestro laboratorio hemos identificado una nueva proteína blanco de estos anticuerpos anti-P que se expresa en la superficie de neuronas y que llamamos NSPA.
Objetivo y Metodología Estudiamos a través de un paciente con psicosis lúpica, la relación entre las alteraciones psiquiátricas y los autoanticuerpos anti-P, según criterios psiquiátricos (test Minimental y CAM); reumatológicos (índice SLEDAI 2-K) y bioquímicos (ELISA, Inmunofluorescencia, Inmunoprecipitación y Westernblot). Se realizaron Radioinmunocintigrafías en el transcurso de la enfermedad para determinar la integridad de la Barrera Hematoencefálica (BHE).
Resultados y Conclusiones Anticuerpos anti-P en el suero de un paciente en fase psicótica, reconocen a una proteína con propiedades neuroalterantes (NSPA). El título elevado estos anticuerpos se correlaciona directamente con la severidad de la enfermedad y con la permeabilidad aumentada de la BHE, presumiblemente permitiendo su paso al SNC. Este estudio contribuye a definir el potencial patogénico de los anticuerpos anti-P en LES-NP intentando encontrar bases moleculares y fisiológicas de la enfermedad.

(FONDAP Nº13980001, proyecto Millennium de MIDEPLAN).

dPRPK Y SU PAPEL EN EL CRECIMIENTO CELULAR EN *Drosophila melanogaster* (dPRPK and its role in cell growth in *Drosophila melanogaster*) **Consuelo Ibar**[2], Patricio Olguín[1] y Álvaro Glavic[1]. CGC, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile[1]. Programa de Doctorado en Ciencias BMCYN, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile[2]. alglavic@uchile.cl

Objetivos La vía de señalización Insulina/TOR tiene un papel fundamental en el crecimiento celular. En este trabajo identificamos un nuevo componente de esta ruta, la proteína quinasa dPRPK y analizamos su papel en el crecimiento celular en *Drosophila*.
Metodología Hemos desarrollado cepas UAS-RNA interferente de dPRPK (UAS-dPRPKi). Estas fueron expresadas utilizando el sistema GAL4/UAS con elementos reguladores territorio específicos. Por RT-PCR analizamos la expresión de dPRPK en distintos estadios y la disminución en la expresión de este gen producido por nuestras cepas RNAi.
Resultados La expresión del RNAi disminuye los niveles de dPRPK produciendo individuos de menor tamaño. Los fenotipos evocados en distintos tejidos se deben a una disminución del tamaño celular. Experimentos de epistasis con elementos de la vía Insulina/TOR, indican que el fenotipo de dPRPKi es rescatado por S6K pero no por PI3K activada.
Conclusiones Nuestros resultados sugieren que esta quinasa está relacionada con el crecimiento celular modulando la vía de señalización Insulina/TOR, río abajo de PI3K pero sobre S6K. Los efectos de dPRPKi sobre la actividad de S6K podrían ser de forma directa, o a través de un activador de S6K como Tor. Actualmente, se están realizando experimentos de epistasis con otros componentes de esta vía para determinar el papel de esta quinasa en esta vía de señalización.

(Agradecimientos: ICM P06-039F, Beca de Postgrado MNPCB P02-009-F a C.I)

¿ES LA GASTRULACIÓN DE PECES ANUALES COMO LA DEL POLLO? (Does annual fish gastrulate like a chick?) **Pereiro L.**, Loosli F.[1], Wittbrodt J.[1], Fernandez J.[2], Concha M.L. Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [1] EMBL, Heidelberg, Germany, [2] Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. lpereiro@med.uchile.cl, mconcha@med.uchile.cl

Objetivo: La organización de las células embrionarias previo a los movimientos morfogenéticos que originan las hojas germinativas y eje embrionario (gastrulación), muestra marcadas diferencias entre especies, y esto se ha asociado a distintos patrones morfogenéticos. En los peces anuales, esta organización tiene forma de disco, semejante a lo descrito en pollo y diferente a otros peces teleósteos. Por lo tanto, investigamos si la gastrulación de los peces anuales es semejante a lo descrito en pollos. **Metodología:** Se usaron peces anuales del género *Cynolebias*. Se clonó y analizó el patrón de expresión de marcadores del organizador (*goosecoid*) y blastoporo (*brachyury*). Se estudiaron los movimientos morfogenéticos mediante microscopía confocal y cortes semifinos seriados. **Resultados:** Durante la gastrulación, la expresión de *goosecoid* anticipa a *brachyury*. Ambos se expresan en un patrón circular, en la zona central del reagregado discoidal, y en etapas posteriores se desplazan hacia regiones anteriores (*goosecoid*) o posteriores (*brachyury*), formando patrones complementarios. El estudio morfológico identifica estructuras celulares en forma de "roseta" en la región posterior del embrión, las cuales podrían corresponder al blastoporo. **Conclusión:** Nuestros resultados sugieren que la gastrulación en los peces anuales es una combinación de mecanismos morfogenéticos compartidos entre embriones de pollo y de otros peces teleósteos no anuales.

Financiamiento: CONICYT (PBCT ACT47), MIDEPLAN (ICM P04-068-F), Howard Hughes Medical Institute (INTNL 55005940), Commission of the European Communities (FP6-2004-NEST-PATH EDCBNL), DAAD, ICBM, FEBA.

COMUNICACIONES LIBRES VII

REGULACIÓN DE LA ENZIMA METIONINA SULFÓXIDO REDUCTASA Y SU PARTICIPACIÓN EN LONGEVIDAD. (Methionine Sulfoxide Reductase regulation and its role in life spand).

[1]**Aldunate R.,** [2]Minniti A, [1]Cataldo, R., [1]Vasquez, L., [2]Inestrosa, N.C. y [1]Leighton F.
[1]Laboratorio de Nutrición Molecular y [2]Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile

Introducción*:* El daño oxidativo en proteínas es una de las principales consecuencias del envejecimiento celular y de enfermedades crónicas asociadas a la edad. La oxidación de metionina a metionina sulfóxido (MetO) a diferencia de otras modificaciones, puede ser reparada por una enzima, la Metionina Sulfóxido Reductasa A (MsrA).
Objetivos: Determinar los componentes moleculares de la regulación de MsrA y la participación de la vía de la insulina a través del factor transcripcional FOXO3A.
Metodología: Se utilizarán líneas celulares para estudiar la región promotora de la MsrA y el modelo de *C. elegans* para evaluar la participación de la vía de la insulina *in vivo*.
Resultados: Utilizando células transfectadas con diferentes construcciones de la región promotora de MsrA fusionadas a luciferasa, se ha observado que FOXO 3A es capaz de activar la expresión del gen reportero. Mediante análisis genéticos y moleculares realizados en *C. elegans* encontramos que MsrA está regulada por la vía de tipo insulina DAF-2/DAF-16, siendo esta regulación dependiente de la activación de DAF-16 (FOXO 3A). Hemos encontrado también que los mutantes de esta enzima viven un 20 % menos que los individuos silvestres.
Conclusiones: Estos resultados sugieren fuertemente la participación de la enzima MsrA en la respuesta a estrés oxidativo y en el control del envejecimiento a través del factor transcripcional FOXO 3A.

Financiado por FONDECYT 11060285, FONDEF D03I-1047. FONDAP 13980001

PARTICIPACIÓN DE HIERRO/·OH Y RYR EN LA GENERACIÓN DE SEÑALES DE Ca^{2+} QUE MEDIAN LAADQUISICIÓN/CONSOLIDACIÓNDEMEMORIA ESPACIAL EN LA RATA (Participation of Iron/·OH and RyR in the calcium signals involved in the spatial memory)

Haeger, P[1], Humeres, A.[1], Núñez, M.T.[2] & Hidalgo, C.[1].
[1]FONDAP-CEMC, Facultad de Medicina, [2] Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. phaeger@med.uchile.cl

Objetivos: El hipocampo de mamíferos concentra procesos de aprendizaje y memoria espacial. El N-metil-D-aspartato (NMDA) promueve la entrada de calcio en neuronas hipocampales; el aumento consiguiente de Ca^{2+} intracelular estimula receptores de ryanodina (RyR), amplificando las señales de Ca^{2+}. NMDA aumenta además la $[Fe^{2+}]i$, generando radical hidroxilo (·OH) vía reacción de Fenton. Nuestro objetivo es estudiar el papel de Fe^{2+}/·OH y RyR en la generación de las señales requeridas para la adquisición/consolidación de memoria espacial.
Metodología: Se observaron señales de calcio mediante microscopia confocal de neuronas en cultivo primario de hipocampo cargadas con Fluo-3AM e incubadas con NMDA (50 µM) o H_2O_2 (200 µM). Se inyectaron ratas (intra-hipocampo) con ryanodina o vehículo 24 horas antes del entrenamiento en la prueba de *Morris water maze* (P-MWM).
Resultados: La adición de NMDA o H_2O_2 a cultivos primarios aumentó la $[Ca^{2+}]_i$, tanto ryanodina (a concentraciones que inhiben RyR) como un atrapador de ·OH previnieron este aumento. Adicionalmente, al entrenar ratas en la P-MWM incrementó la expresión hippocampal de RyR3 y el mRNA del transportador de hierro DMT1; la inyección intra-hipocampal de ryanodina a concentraciones que activan RyR, incrementó la velocidad de aprendizaje.
Conclusión: Sugerimos que existe una interacción funcional entre hierro/·OH y RyR que contribuye a la generación de las señales de Ca^{2+} necesarias para la adquisición/consolidación de memoria espacial.

Fondecyt-Post-Doc 3070035, CEMC-Fondap 15010006, Milenio P05-001F.

EL METABOLITO DE ESTRÓGENO 2-METOXI-ESTRADIOL REDUCE LOS NIVELES DEL FACTOR TISULAR Y EL POTENCIAL INVASIVO DE LAS CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA. (The estrogen metabolite 2-methoxiestradiol reduces Tissue Factor levels and the invasive potential of breast cancer cells.) **M. Quezada** y G.I. Owen. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile.

Objetivos El agente antitumoral 2-metoxiestradiol (2ME), es utilizado actualmente en pruebas clínicas para detener el cáncer. Nuestro laboratorio ha reportado que Factor Tisular (FT) favorece los procesos de invasión, actividad procoagulante y angiogénesis del cáncer. Además nuestro laboratorio ha reportado que progesterona aumenta el potencial invasivo en células de cáncer de mama. En este trabajo investigaremos si 2ME disminuye el potencial invasivo de las células de cáncer de mama y si FT tiene un papel en este proceso.
Metodología Se evaluó el efecto de 2ME y progesterona en los niveles de FT (proteína y ARNm) y la activación del promotor de FT. El potencial invasivo de las células ZR-75 se evaluó mediante en ensayos de invasión *in vitro* en matrigel.
Resultados 2ME inhibió el aumento mediado por progesterona en los niveles (proteína y ARNm) de TF, disminuyendo la activación de su promotor. Además 2ME revirtió el aumento de la invasividad de las ZR-75 mediado por progesterona.
Conclusiones El metabolito de estrógeno 2ME, pero no 17-β estradiol, disminuye a nivel transcripcional los niveles de FT aumentados por progesterona. 2ME revierte el aumento en el potencial invasivo de células de cáncer de mama mediado por progesterona. Este estudio apoya el uso de 2ME como agente para reducir la metástasis, favoreciendo el pronóstico de los pacientes en etapas avanzadas del cáncer de mama.

ADAPTINA ε DE *Arabidopsis thaliana*, UN COMPONENTE DEL PUTATIVO COMPLEJO AP-4, PRESENTE EN MAMÍFEROS, SE ACUMULA PREFERENTEMENTE EN ETAPAS TEMPRANAS DE LA DIVISIÓN CELULAR (ε Adaptin of *Arabidopsis thaliana*, a possible component of AP-4 mammalian complex, is acummulated in early stages of plant cell division) **Daniela C. Urbina** y Lee Meisel. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal y Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Nacional Andrés Bello. daniurbina@gmail.com

Objetivos Se ha reportado que la maquinaria molecular de la ruta secretoria es un actor relevante durante la división celular en plantas. En el presente trabajo se investiga el rol de Adaptina ε, componente del putativo complejo AP-4 de plantas en la división celular de Arabidopsis thaliana.
Metodología Mediante herramientas bioinformáticas se detectó un putativo AP-4 y sus posibles componentes, entre ellos Adaptina ε. A su vez se generó un anticuerpo contra adaptina ε el que fue usado para inmuno detecciones de esta proteína en tejidos y en planta completa.
Resultados Se detectó un putativo complejo AP-4 de plantas y mediante análisis bioinformáticos se encontró en el promotor de Adaptina ε, elementos en cis que responden a ciclo celular. A su vez, mediante inmuno detección usando anticuerpos contra adaptina ε de Arabidopsis, se observó que esta proteína se acumula en tejidos con alta división celular y en células en etapas tempranas de la mitosis.
Conclusiones Estos resultados sugieren un rol para Adaptina ε, componente del complejo AP-4, en la división celular de plantas.
Financiado por Beca de Postgrado CONICYT y Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal, PCB-P02-009-F

COMUNICACIONES LIBRES VIII

GALECTINA-8 Y AUTOANTICUERPOS ANTI-GAL-8 BLOQUEANTES MODULAN LA APOPTOSIS EN LINFOCITOS T (Galectin-8 and function-blocking autoantibodies against Gal-8 modulate an apoptotic pathway in T cells) **Claudia Metz**[1,2], Andrés Norambuena[2], Antonia Silva[2], Alfonso González[1,2] y Andrea Soza[1,2]. [1]Depto. de Inmunología Clínica y Reumatología, Fac. Medicina, and [2]Centro de Regulación Celular y Patología, Fac. Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, and MIFAB, Santiago, Chile. cmetz@med.puc.cl

Objetivo: Hemos demostrado previamente que el 30% de los pacientes con lupus eritematosos sistémico (LES) producen autoanticuerpos anti-Gal-8 bloqueantes de la función de Gal-8. En este trabajo estudiamos los efectos de Gal-8 y sus autoanticuerpos sobre linfocitos T y la expresión de Gal-8 en células mononucleares de sangre periférica (MNSP) obtenida de pacientes con LES y controles sanos.
Métodos: Utilizamos Gal-8 recombinante y medimos sus efectos sobre la activación de ERK1/2, la producción de ácido fosfatídico (AF), activación de PKA y apoptosis en células Jurkat y en MNSP. Gal-8 fue detectada por RT-PCR.
Resultados: 1) Gal-8 induce una activación sostenida de ERK por al menos 4 h, la que depende de la producción de AF y de la actividad basal de PKA, llevando a apoptosis; 2) Gal-8 aumenta la actividad de fosfodiesterasa, que se correlaciona con una disminución en la actividad basal de PKA; 3) autoanticuerpos anti-Gal-8 inhiben la apoptosis inducida por Gal-8; 4) en MNSP de pacientes con LES se detectó con mayor frecuencia el mRNA de Gal-8.
Conclusiones: Gal-8 induce apoptosis en linfocitos T por un mecanismo que involucra la activación de ERK a través de rutas dependientes de AF y de PKA.

(FONDECYT 1050715, FONDAP 13980001 y MIFAB).

ESTUDIO DEL DESARROLLO DE LA COMISURA POSTERIOR EN EMBRIONES DE POLLO (Development of the posterior commissure in chick embryos) **Teresa Caprile,** Florencia Márquez, Hernán Montecinos. Dpto. Biología Celular, Universidad de Concepción. tcaprile@udec.cl (Patrocinio: J.P. Henriquez)

Objetivos: Los axones comisurales de la zona pretectal atraviesan la línea media del animal a través de la comisura posterior; sin embargo, hasta el momento se desconoce en que momento del desarrollo comienzan a aparecer los primeros axones y que moléculas estarían involucradas en atraerlos hacia la línea media.
En el presente trabajo se estudia la formación de la comisura posterior, su relación estrecha con la placa del techo diencefálica y la presencia en esta zona de diversas moléculas relacionadas con guía axonal.
Metodología Se estudió el límite diencefálico-mesencefálico de embriones de pollo entre 1-14 días de incubación. Se realizó inmunohistoquímica de esta zona con marcadores axonales, anti-OSC-espondina, ROBO-1, integrina alpha 6, integrina Beta-1, N-CAM, fibronectina y L1.
Resultados Los primeros axones de la comisura posterior fueron observados al tercer día de desarrollo, momento en que el techo diencefálico comienza a ser inmunopositivo para OSC-espondina. Se observó además reacción positiva para integrina alpha 6, L1, N-CAM y fibronectina.
A partir del 5 día de desarrollo las células de la placa del techo diencefálica comienzan a emitir prolongaciones basales que se entremezclan con los axones que atraviesan la comisura posterior, dichas prolongaciones poseen una fuerte inmunorreactividad para OSC-espondina.
Conclusiones Los resultados sugieren la participación de la placa del techo diencefálica en la guía de axones a través de la comisura posterior.

Financiado por FONDECYT 11060082.

SIGNALING FOR Thy-1 ON NEURON-LIKE CELLS (Señalización para Thy-1 en células tipo neuronas). **Rodrigo Herrera-Molina,** Tamara Hermosilla, Darío Vásquez, Andrew FG Quest, María de la Luz Aylwin# and Lisette Leyton*. FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC). #Center for Studies of Integrated Neurosciences. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. *lleyton@med.uchile.cl

Objective Signaling events triggered by Thy-1 engagement in fibroblasts reportedly sequester and inhibit Src kinase, to activate RhoA GTPase and its effector ROCK and thereby induce cytoskeletal changes. Here, we investigated signaling events occurring upon Thy-1-induced process retraction in a neuron-like cell (CAD).
Methology CAD clones were obtained by stably transfecting with either empty vector (mock) or the equivalent plasmid containing a Thy-1 insert. Clones were tested by Western Blot and FACS analysis for the presence of Thy-1. Whole cell Patch-Clamp was employed to measure membrane potential and Na^+/K^+ currents and microscopy to monitor morphological changes. Results obtained with these clones were compared to those obtained by treating CADwt cells with anti-Thy-1 mAbs, Src (PP2,10μM) and ROCK (Y27632,10μM) inhibitors and a RhoA activator (LPA,2μM).
Results In mock CAD clones large and abundant spikes were detectable. In contrast, CAD clones over-expressing Thy-1 were round and lacked spikes. In CADwt cells treated with anti-Thy-1, PP2 or LPA for 75, 20 or 5min, respectively, spikes were also absent. Anti-Thy-1- or PP2-induced process retraction was prevented by Y27632. In all cases, membrane potential or Na^+/K^+ currents were the same.
Conclusion Retraction of processes in CAD cells occurs via a Src/RhoA/ROCK-dependent pathway that can be triggered by over-expression of Thy-1, treatment with anti-Thy-1, Src inhibition or RhoA activation but, is prevented by the ROCK inhibitor.

ICM P04-068-F(AML), FONDAP 15010006(AFGQ), FONDECYT 1070699(LL) and CONICYT PhD Fellowship(RH-M).

DOMINIO DE TRANSMEMBRANA 1 PARTICIPA EN LA OLIGOMERIZACIÓN DE RECEPTORES V2 DE VASOPRESINA (Transmembrane domain 1 mediates oligomerization of V2 vasopressin receptor) **Añazco Carolina C**., Gutiérrez R.E., Sarmiento J.M., González C.B. Laboratorio de Endocrinología Molecular, Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. carolinaanazco@uach.cl

Objetivo: Hemos demostrado que los receptores de vasopresina forman oligómeros, el presente trabajo tuvo por objeto determinar los dominios de transmembrana involucrados en oligomerización.
Metodología: Mediante PCR se generaron distintos fragmentos del receptor que fueron etiquetados con el epítope de HA o fusionados a GFP. A fin de determinar la interacciones se hicieron coinmunoprecipitaciones de extractos totales de células cotranfectadas, con anti-GFP y el epítope HA detectado mediante *Western blot*.
Resultados: Los resultados de estos ensayos mostraron que la porción N-terminal del receptor interacciona consigo misma, al igual que la porción C-terminal. Se observó además, que los dominios de transmembrana 1 y 6 interaccionaron con el receptor completo, no así el dominio 5 de transmembrana. Por otro lado, la detección de la expresión de los dominios de transmembrana 1, 5 y 6 en los coinmunoprecipitados, indica que el dominio de transmembrana 1 es un dominio clave en la oligomerización, puesto que, a pesar de su baja expresión, ejerce una fuerte interacción con el receptor completo.
Conclusiones: Las interacciones que forman estos oligómeros parecen residir en varios segmentos de transmembrana. Las interacciones de la porción N-terminal parecen depender del dominio 1 de transmembrana, puesto que ejerce una fuerte interacción con el receptor completo. El dominio de transmembrana 5 no participa en la oligomerización.

Financiado por FONDECYT 1060158 y CONICYT AT-20450140.

EXPRESIÓN CÉLULA-ESPECIFICA DE MeCP2 SILVESTRE EN RATONES MUTANTES PARA MECP2 (Cell-specific expression of wild-type MeCP2 in mutant mouse models for MeCP2) **Matías Alvarez-Saavedra,** Mauricio A. Sáez, Bredford Kerr, Alexandra Saona y Juan I. Young. Centro de Estudios Científicos, Valdivia, Chile. matiasalvarez@cecs.cl, jyoung@cecs.cl

Objetivo: Rett syndrome (RTT), a leading cause of mental retardation with autistic features in females, is caused by mutations in the gene encoding methyl-CPG-binding protein 2 (MeCP2). Rett syndrome is characterized by a diverse set of neurological features that includes cognitive, motor, behavioral, and autonomic disturbances. The diverse features suggest that specific neurons contribute to particular phenotypes and raise the question whether restoring MeCP2 function in a cell-specific manner will rescue some of the phenotypes seen in RTT.
Metodología: To address this, we generated transgenic mice expressing inducible MeCP2 under the control of the brain-specific promoters calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CamKII) or neuron-specific enolase (Eno2) and bred them onto mouse models lacking functional MeCP2.
Resultados: Expression of normal MeCP2 in either CamKII or Eno2 distribution was unable to prevent the appearance of most of the phenotypes of the RTT mouse models.
Conclusiones: These results suggest that most RTT phenotypes are caused either by disruption of complex neural networks involving neurons throughout the brain, or by disruption of the function of specific neurons outside of the broad CamKII or Eno2 distribution.

COORDINACIÓN MOLECULAR DE PROCESAMIENTO ANTIGÉNICO Y MIGRACIÓN EN CÉLULAS DENDRÍTICAS (Molecular coordination of migration and antigen processing in dendritic cells) **Vargas Pablo**[1,2], Faure-André G[2], Guermonprez P[2], Bono M.R. [1], Lennon-Duménil A.M.[2], Rosemblatt M.[3,4]. [(1)]Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Santiago, Chile. [(2)]Institut Curie, INSERM U653, Paris, Francia. [(1,3)]Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB y U. Andrés Bello, Santiago, Chile. pablo.vargas@curie.fr

Objetivo Estudiar el impacto de las primeras etapas de la respuesta inmune en el desarrollo de la misma. En particular nos interesa la mecánica molecular que controla los procesos de procesamiento antigénico y migración celular en células dendríticas, eventos iniciados luego del contacto con el patógeno.
Metodología Tras exponer por tiempos cortos células dendríticas (CDs) a distintos tipos de antígeno se evaluaron el procesamiento antigénico y la migración celular. Utilizando células deficientes en proteasas específicas de las CDs se determinó cómo estas moléculas coordinan temporalmente la ocurrencia de ambos fenómenos.
Resultados Las CDs deficientes en catepsina S (CatS) muestran un defecto tanto en el procesamiento antigénico como en la migración. Nuestros resultados muestran que ambos procesos están relacionados con la molécula Ii, sustrato especifico de CatS. Esto sugiere que la actividad de CatS coordina ambos eventos, procesamiento antigénico y migración. De acuerdo con esta idea, la activación de CDs con LPS disminuye transitoriamente la actividad de CatS, sugiriendo un control espacial y temporal de ambos procesos.
Conclusiones El procesamiento antigénico y la migración celular en CDs están controlados por una maquinaria común. Esto favorece el inicio coordinado de ambos procesos, contribuyendo al control del orden espacio-temporal necesario para desarrollar una respuesta inmune

(Financiamiento: Fondecyt 1060253, Ecos-Conicyt C03S01).

Paneles I

(1) IDENTIFICACIÓN DEL AMINOÁCIDO (TREONINA 235) IMPLICADO EN LA INHIBICIÓN DEL RECEPTOR NMDA POR EL DOMINIO PDZ2 DE LA PROTEÍNA ANDAMIO PSD-95 (Identification of a single amino-acid (Threonine235) involved in the inhibition of NMDA receptors by the PDZ2 domain of the scaffolding protein PSD-95) Dennisse González[1], **Mauricio Sandoval[1,3]**, Estíbaliz Ampuero[1], Juan José Marengo[2], Ursula Wyneken[1]. [1]Lab. Neurociencias, U. de los Andes; [2]ICBM, U. de Chile; [3]Fac. de Ciencias, U. de Chile. neuroc@uandes.cl

El receptor de NMDA (R-NMDA) está anclado a la densidad postsináptica (DPS) por interacción de sus subunidades NR2 con los dominios PDZ1 y PDZ2 de la proteína andamio PSD-95. Antecedentes nuestros indican que la interacción de PDZ1 con el R-NMDA lo activa, mientras que la interacción con PDZ2 lo inhibe, efecto que es regulado por la proteína quinasa CK2.
Objetivo: Identificar los aminoácidos implicados en este efecto diferencial.
Metodología: Mutaciones sitio-dirigidas, registros de corrientes mediadas por el R-NMDA mediante Patch-Clamp de DPSs incorporadas en liposomas gigantes.
Resultados: Análisis *in silico* indicaron que Treonina235 (T235) en PDZ2 está presente en una secuencia de consenso fosforilada por CK2, mientras que el aminoácido correspondiente en PDZ1 es Alanina. Para evaluar la participación de T235 en el efecto inhibitorio de PDZ2, realizamos mutaciones sitio-dirigidas, reemplazando Treonina por Alanina o Aspartato. Al registrar las corrientes activadas por NMDA, encontramos que $PDZ2_{nativo}$ inhibe reversiblemente al R-NMDA en 45,5±6,2%, mientras $PDZ2_{T235A}$ y $PDZ2_{T235D}$ lo activan en 20 y 57%, respectivamente. La interacción entre NR2 y PDZ2 mutados y nativo, evaluados por pull-down, no cambia.
Conclusión: el estado de fosforilación de T235 en PSD-95 regula al R-NMDA, lo que sería un nuevo mecanismo que contribuye a la plasticidad sináptica.
Financiamiento: Anillo ACT-09 2006, BMBF(UW)

(2) DOMINIOS DE TRANSMEMBRANA Y SU IMPORTANCIA EN LOS PROCESOS DE DIMERIZACIÓN DE CONEXINAS (Transmembrane domains and their importance in the process of connexins dimerization) **Rodrigo Acuña[1]** y Agustín D. Martínez[1]. [1]Centro de Neurociencias Valparaíso, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. rodrigo.acuna.bq@gmail.com (Patrocinio: J. C. Sáez)

Objetivo: Los Canales de Uniones de Hendidura (UH) están formados por proteínas llamadas conexinas (Cxs), estas últimas poseen cuatro dominios transmembranales (TM). La oligomerización de Cxs para generar un hexámero ocurre previo al transporte a la membrana, los determinantes moleculares de dicho proceso no están del todo claro. Se estudio las interacciones intermoleculares entre TM de las distintas subunidades de Cxs que podrían ser fundamentales para el proceso de oligomerización.
Metodología: Se utilizo TOXCAT, un análisis del tipo doble híbrido para interacciones de alfa hélices en la membrana plasmática de bacterias. Los cDNAs que codifican para cada uno de los dominios de TM de las Cxs 26 y 43 fueron generados mediante PCR o por oligonucleótidos sintéticos e introducidos en el vector pML-27.
Resultados: Se aprecia una fuerte interacción por parte del TM1 de la Cx26 y la existencia del motivo, VVAA, que induce dimerización. Respecto a Cx43, todos los TMs interactúan débilmente, sin embargo, existe una mayor interacción por parte del TM4 que es comparable al TM1 de la Cx26.
Conclusiones: Los TM de Cxs de distinta familia (incompatibles para oligomerizar), difieren en sus propiedades de interacción en la membrana plasmática. Estos estudios podrían contribuir a generar un modelo sobre el proceso de oligomerización de Cxs.
Agradecimientos: Anillo de Ciencia y Tecnología ACT-46.

(3) Cu^{2+} INDUCE LA UBIQUITINACION SIN ALTERAR LA EXPRESION DE UBIQUITINA (Cu^{2+} induces ubiquitinacion without altering ubiquitin expression) **Avila M.[†Ψ]**, Aylwin C.[†], Reyes M.[†], Peters C.[†], Lim C.M.[‡], James S.[‡], Guzmán L.[§], Moraga G.[§], Aguayo. L.G.[§], De Ferrari G.V.[Ψ], Bush A.I.[‡] y Opazo C[†]. [†]Laboratorio de Neurobiometales, [§]Departamento de Fisiología, [Ψ]Departamento de Bioquímca y Biología Molecular, Universidad de Concepción, Chile; [‡]Oxidation Disorders Laboratory, Mental Health Research Institute of Victoria and Department of Pathology, The University of Melbourne, Australia. carlosopazo@udec.cl

Objetivos: La vía Ubiquitina/Proteosoma es una de las rutas principales de degradación de proteínas intracelulares. Nuestros resultados previos indican que la Ubiquitinación es inducida en presencia de cobre. Sin embargo, este efecto podría ser mediado por un aumento en la expresión de Ubiquitina. En el presente trabajo evaluamos el efecto de cobre en la expresión de mRNAs de Ubiquitina y sobre la Ubiquitinación en células HEK293T que sobre expresan proteínas de fusión Ubiquitina-HA**.**
Metodología: Se determinó los niveles de mRNA para UbA, UbB y UbC a través de PCR en cultivos primarios de corteza e hipocampo de rata. Se evaluó la formación de oligómeros de Ubiquitina a través de técnicas de Western blot, en células HEK293T transfectadas con un constructo de Ubiquitina fusionado a un epítope HA, en un vector pIRES2-EGFP.
Resultados: Los niveles de mensajeros para los genes UbA, UbB y UbC no son alterados en presencia de cobre. Cobre induce la formación de oligómeros de Ubiquitina-HA.
Conclusiones: Estos experimentos indican que el efecto de cobre sobre la ubiquitinación es independiente de la activación de los promotores endógenos que regulan la expresión de Ubiquitina o de la inducción y/o estabilización de los mensajeros para los genes UbA, UbB y UbC.
Financiado por proyecto Anillo-PBCT ACT-04.

(4) EFECTO DE LA SOBREEXPRESIÓN DE EZRINA EN ACINOS DE GLÁNDULAS SALIVALES (Effect of ezrin overexpression in salivary gland acini) Pérez P[1], **Brito M[1]**, Aguilera S[2], Alliende C[1], Ewert P[1], Castro I[1], Molina C[3], González S[1], Leyton C[1], Goldsmith C[4], Baum B[4] y González MJ[1]. [1]ICBM, Fac. de Medicina, U. de Chile, [2]Clínica INDISA, [3]U. Mayor, [4]NIDCR, NIH, USA mbrito@med.uchile.cl

Objetivo. La correcta estructuración de las microvellosidades del polo apical de células acinares depende de ezrina, una proteína estructural. Esta organización es importante para que ocurra exocitosis. Pacientes con síndrome de Sjögren (SS) manifiestan hiposecreción salival y desorganización de microvellosidades en células acinares de glándulas salivales (GS). Estos cambios se acompañan de una sobre expresión de ezrina y su re-localización apico-basolateral. Para evaluar si los niveles aumentados de ezrina se relacionan con los cambios morfológicos y funcionales descritos, se estudió el efecto de la sobre expresión de ezrina en acinos de GS de individuos controles.
Metodología. En acinos de GS de individuos controles cultivados en 3D se sobre expresó ezrina utilizando adenovirus recombinantes. Se evaluó mediante microscopía confocal la localización de ezrina y la respuesta secretora de acinos estimulados con isoproterenol y carbamilcolina.
Resultados. Ezrina se localizó mayoritariamente en el polo basal de las células acinares, de forma similar a la descrita en pacientes SS, sin observarse cambios en marcadores de polaridad apical. Esta sobre expresión de ezrina no afecta la respuesta secretora de los acinos.
Conclusión. En pacientes SS la sobre expresión y redistribución de ezrina, aparentemente no estaría afectando el proceso de secreción. Se está evaluando el efecto sobre la organización de las microvellosidades del polo apical, lo que permitirá una interpretación más acabada de los resultados. Fondecyt 1050192, Beca CONICYT (MB, PP).

(5) CARACTERIZACIÓN DE CONCATÉMEROS TRIMÉRICOS DEL RECEPTOR $P2X_4$ WT, CON MUTACIÓN H140A EN UNO Y DOS MONÓMEROS (Characterization of trimer concatemers of the purinergic P2X4 receptor WT, with the H140A mutation in one and two monomers) **P. Bull,** D. Sanhueza, C. Coddou, J. P. Huidobro-Toro. Lab. de Bioquímica y Lab. de Nucleótidos, Centro de Reg. Celular y Patología J.V. Luco, Instituto MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, P. U. Católica de Chile.

Objetivos: Caracterizar concatémeros triméricos del receptor $P2X_4$ WT, con uno o con dos monómeros mutados en His140Ala.
Objetivos: Las construcciones se obtuvieron por clonamiento y mutagénesis sitio-dirigida. Se expresaron y caracterizadas por voltaje-clamp en oocitos de *X. lavéis.*
Resultados: *Trímero concatenado nativo (H-H-H).* EC_{50} para ATP: 55 ± 12 µM. IC_{50} para cobre fue similar al monómero (8,8 ± 1,0 µM). Zinc potenció de manera bifásica con un máximo de 5.1 ± 1,1 veces al pre-aplicar zinc 10 µM.
Trímero concatenado mutado (H-A-H). Con mutación H140A en la segunda subunidad, EC_{50} para ATP: 60 ± 15 µM. Cobre inhibió en forma similar a H-H-H, pero sólo en un 80%. Zinc potenció en forma bifásica; a 10 µM el aumento fue de 4,7 ± 0,9 veces.
Trímero concatenado mutado (A-H-A). Con mutación H140A en la primera y tercera subunidad. EC_{50} para ATP: 105 ± 40 µM. A-H-A no fue inhibido por cobre. La respuesta a zinc aumenta, cambiando la forma de la curva concentración-respuesta de bifásica, observada en H-H-H y H-A-H, a sigmoidea.
Conclusiones: Al mutar dos subunidades se pierde la inhibición por cobre, involucrando a His140. Esto indica que el cobre se uniría por lo menos a dos de los tres monómeros que conforman el receptor funcional.

(6) SIMVASTATINA INDUCE APOPTOSIS EN FIBROBLASTOS Y MIOFIBROBLASTOS CARDIACOS (Apoptosis induced by simvastatin in cardiac fibroblast and myofibroblast) **Miguel Copaja-Soto**, Daniel Venegas, Sergio Lavandero, Guillermo Diaz-Araya. Centro FONDAP CEMC. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile. mcopaja@gmail.com

Objetivo: Los fibroblastos y miofibroblastos cardiacos son protagonistas centrales en la fibrosis reparativa post-infarto, desconociéndose cómo se regula este proceso. A fin de investigar la participación de RhoA en su sobrevida, se estudió el efecto de simvastatina en ambos tipos celulares.
Metodología: Se utilizaron cultivos primarios de fibroblastos cardiacos de rata neonata, obteniéndose miofibroblastos a partir de éstos por tratamiento con TGFβ (5 ng/mL). Luego se trataron ambos tipos celulares con simvastatina (0,1; 1 y 10 µM) por 24, 48 y 72 h. La viabilidad celular se evaluó por conteo de células viables al azul de tripan. La apoptosis se evaluó por citometria de flujo/yoduro propidio y la necrosis por LDH liberada al medio de cultivo.
Resultados: Simvastatina redujo significativamente la viabilidad del fibroblasto en forma dependiente de la concentración y tiempo, siendo este efecto de menor magnitud en el miofibroblasto. En ambos tipos celulares simvastatina gatilló muerte por apoptosis a las 24 y 48 h para el fibroblasto y miofibroblasto, respectivamente. Dado que los niveles de LDH no se modificaron, se descartó muerte por necrosis. El pretratamiento de las células con intermediarios de la síntesis del colesterol (especialmente aquellos asociados a la prenilación de proteínas) previno significativamente la muerte inducida por simvastatina,
Conclusiones: Simvastatina indujo apoptosis en ambos tipos celulares siendo de mayor magnitud en el fibroblasto. Los intermediarios de la síntesis del colesterol previenen la apoptosis de ambos tipos celulares.
FONDECYT 1061059 (GDA), FONDAP 1501006 (SL)

(7) MECANISMO DE POTENCIACIÓN DEL EFECTO DE ALDOSTERONA POR VASOPRESINA EN CARDIOMIOCITOS DE RATAS (Effect of aldosterone is increased by vasopressin in cardiomyocytes of rats) **Carrasco L.**, Michea, L. Laboratorio Fisiología Integrativa, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, U. de Chile. lcarrascoa@med.uchile.cl

Aldosterona y una dieta rica en sal producen daño cardiaco, caracterizado por fibrosis e hipertrofia. Estudios previos del laboratorio indican que el aumento de vasopresina circulante, inducido por la dieta rica en sal, podría potenciar el daño cardiaco secundario a aldosterona. El tejido cardiaco expresa el receptor de mineralocorticoide (MR) y la enzima 11β-hidroxiesteroide-deshidrogenasa 2 (11β-HSD2), que confiere especificidad a la acción de aldosterona.
Objetivo: Estudiamos si vasopresina regula directamente la expresión de 11β-HSD2 en cardiomiocito de rata en cultivo.
Metodología: Cultivos primarios de cardiomiocitos fueron estimulados con concentraciones crecientes (10^{-11}-10^{-9}M) de vasopresina por 24 horas. Cuantificamos la abundancia de mRNA de ANP, BNP y 11β-HSD2 por RT-PCR en tiempo real. La hipertrofia de los cardiomiocitos de evaluó como área celular y expresión de β-MHC.
Resultados: La estimulación con vasopresina produjo aumento significativo en la abundancia de mRNA de 11β-HSD2 y BNP (2,7 ± 0,5 respecto al control, N=4, P<0,05)); aumento el mRNA de MR (N=6) y no tuvo efecto sobre GR y ANP. El aumento de 11β-HSD2 inducida por Vasopresina es inhibida por antagonista específico para el receptor V1 y no V2. La combinación de aldosterona y vasopresina induce aumento de los parámetros hipertróficos.
Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que vasopresina actúa directamente sobre los cardiomiocitos induciendo la expresión de la 11β-HSD2, a través del receptor V1. El aumento de la expresión de la 11β-HSD2 potenciaría la acción deletérea de aldosterona en el cardiomiocito.
FONDECYT 1050690 y 3060026. FONDAP 15010006.

(8) NGF INDUCE LA FOSFORILACIÓN DE PPARγ Y MODULA SU ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL EN CÉLULAS PC12 (PPARγ phosphorylation is induced by NGF and modulates its transcriptional activity in PC12 cells) **Karen Fuenzalida** y Miguel Bronfman. Centro de Regulación Celular y Patología, Instituto Milenio para Biología Fundamental y Aplicada. Departamento de Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile. kfuenzal@gmail.com

Objetivo*:* La fosforilación en el residuo Serina 112 de PPARγ (receptor activado por proliferadores peroxisomales gamma) por las quinasas Erk1/2 y JNK modula la activación transcripcional de PPARγ y permiten una regulación fina de su función y de los procesos biológicos en que participa. Trabajo de nuestro laboratorio han mostrado que PPARγ es un nuevo blanco de la vía de sobrevida dependiente de NGF en células PC12. NGF induce la actividad transcripcional de PPARγ y aumenta su contenido proteico. En este trabajo se plantea como objetivo determinar si PPARγ esta siendo blanco de esta modificación en el proceso de diferenciación neuronal.
Metodología*:* La determinación de la fosforilación de PPARγ, fue realizada por Western Blot contra fosfo-PPARγ en células PC12 tratadas con NGF. La actividad transcripcional fue evaluada con un gen reportero PPRE-Luc.
Resultados*:* En este trabajo, se muestra que NGF a través de la activación de las MAPK Erk1/2 y JNK cambia el estado de fosforilación de PPARγ, cambio que afecta la respuesta transcripcional del receptor.
Conclusiones*:* Estos resultados muestran que, al igual como ocurre con otras vías de transducción, PPARγ esta siendo regulado a través de fosforilación por la vía de señalización de diferenciación y sobrevida neuronal inducida por NGF. El efecto del cambio post-traducional en el papel jugado por PPARγ en sobrevida neuronal queda aún por ser estudiado.

(9) TCF/LEF Y Runx2 AUMENTAN LA ACTIVIDAD DEL PROMOTOR DEL GEN Ric-8B HUMANO EN CÉLULAS OSTEOBLASTICAS (TCF/LEF and Runx2 up-regulate the human Ric-8B gene promoter activity in osteoblastic cells) **Rodrigo Grandy**, Juan Olate y Martin Montecino. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. rgrandy@udec.cl

Objetivos. La proteína Ric-8 participa en regulación de la secreción de neurotransmisores y división celular asimétrica en *C. elegans y Drosophila*. Experimentos de pérdida de función han mostrado que esta proteína es fundamental para el progreso de las primeras etapas del desarrollo embrionario en estas especies y en ratón. Debido a que se desconocen los mecanismos que regulan la expresión del gen Ric-8B, nos propusimos caracterizar el promotor de hRic-8B, definiendo vías de señalización que modulan su actividad.
Metodología. Un análisis *in sílico* del promotor de hRic-8B (2 Kb) reveló la presencia de sitios de unión putativos para TCF/LEF y Runx2, ambos involucrados en la regulación de genes durante la diferenciación osteoblástica. El promotor fue clonado en un vector corriente arriba del gen Luciferasa, para evaluar su respuesta frente a la sobreexpresión de Runx2 y la activación de la vía Wnt. **Resultados:** La actividad del promotor de hRic-8B fue significativamente mayor en células de linaje osteoblástico respecto a células no óseas. La sobreexpresión de Runx2 o la activación de la vía Wnt aumentaron la actividad de este promotor.
Conclusiones. La actividad del promotor de hRic-8B es regulada positivamente por Runx2 y TCF/LEF en células de linaje osteoblástico.
Financiado por: Anillo ACT-44 y Beca CONICYT.

(10) LEPTOCARPINA MODULA LA ACTIVIDAD DE MRP1 EN CÉLULAS DE OLIGODENDROGLIOMAS (Leptocarpin modulates the MRP1 activity in oligodendroglioma cells) **González-Oyarzún M.,** Quezada C., Mena C., Garrido W., Nualart F., Martinez R., Yañez A., Slebe J.C. & Cárcamo J.G**.** Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. gcarcamo@uach.cl

Conclusiones: La resistencia múltiple a drogas (MDR) es uno de los mecanismos que determinan el fracaso terapéutico en el tratamiento de múltiples enfermedades, tales como, cáncer, procesos infecciosos, epilepsia, y esquizofrenia. Por otro lado, las lactonas sesquiterpénicas son compuestos aislados de plantas, a los que se les atribuyen propiedades citotóxicas, antiinflamatorias y antimicrobianas. El objetivo principal es evaluar la capacidad de Leptocarpina, una lactona sesquiterpénica asilada desde la planta nativa *palo negro* (*Leptocarpha rivularis*), para modular el fenómeno de resistencia a drogas, en modelos celulares de microvasculatura de barrera hematoencefálica (HBMEC) y oligodendrogliomas (TC620), las que expresan respectivamente Pgp y MRP1 de forma mayoritaria.
Metodología: Los estudios de acumulación fueron realizados en células HBMEC y TC620 usando R123 y Daunorrubicina como sustratos, en presencia de 30 y 100 µM Leptocarpina, y de reconocidos moduladores de las proteínas MDR.
Resultados: La información obtenida sugiere que Leptocarpina modula la actividad de proteínas MDR, por interacción funcional con MRP1, lo que redunda en un aumento de la acumulación de R123 en células oligodendrogliomas y en un aumento de su sensibilidad a citotóxicos. Para las células HBMEC no se observan mayores variaciones en los patrones de acumulación de los sustratos MDR.
Conclusiones: Estos resultados permiten sugerir un potencial uso de Leptocarpina no sólo como posible citotóxico antitumoral, sino que también como un modulador de la resistencia múltiple a drogas.
Financiado por: Proyecto Bicentenario de Ciencia y Tecnología - Conicyt (PBCT N°5), Universidad Austral de Chile (DID-UACH-SB-200503 y DID-UACH-S-200529)

(11) LOCALIZACIÓN DE FACTOR TISULAR (FT) EN DOMINIOS RICOS EN COLESTEROL (LIPID RAFTS, LR): MECANISMO DE ENCRIPTACIÓN DE ACTIVIDAD PROCOAGULANTE EN PLAQUETAS HUMANAS (Tissue Factor (TF) localization in cholesterol-rich domains (Lipid Rafts, LR): Mechanism of procoagulant activity encryption in human platelets) **Ibarra P.,** Panes O., Matus V., Sáez CG, Pereira J., Mezzano D. Dpto. Hematología-Oncología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. pcibarra@uc.cl (Patrocinio: E. Brandan)

Introducción. Las plaquetas contienen, sintetizan y expresan FT funcional, especialmente al ser activadas. El FT debe estar protegido ("encriptado") por algún mecanismo post-traduccional para mantenerlo inactivo en la membrana plaquetaria. Este estudio pretende indagar si la localización de FT en LR, es un mecanismo de encriptación de su actividad procoagulante**.**
Metodología: Se preparó LR de plaquetas humanas lisadas en Triton X-100 a 4ºC y sometidas a ultra centrifugación (180.000g x 18 hrs, 4ºC) en gradiente continua de sacarosa (5 a 40%). Se extrajeron 12 fracciones identificando los LR por western blots, usando flotilina-1 como marcador y MoAb que reconoce la forma inactiva del FT.
Resultados: LR de plaquetas en reposo contienen 18% de la especie de 60 kDa de FT plaquetario inactivo, estimado por densitometría. Esta fracción aumenta a 25% post-activación inicial de las plaquetas (5 min) y a 45% (15 min) de activación con TRAP (5µM). El peso molecular obtenido, sugiere que LR favorecen la dimerización del FT.
Conclusiones: El desplazamiento de FT hacia LR constituiría un mecanismo de encriptación e inhibición de su actividad procoagulante en plaquetas humanas.
Financiamiento FONDECYT1060637, DIPUC-17.

(12) INHIBIDORES DE CALPAÍNA 2 SUPRIMEN LA APOPTOSIS INDUCIDA POR CALOR EN ESPERMATOCITOS DE RATA (Suppression of Heat-Induced Apoptosis in Rat Spermatocytes by Calpain 2 Inhibitors) **Carlos F. Lagos[1,2]*,** Carlos Lizama[3], Angel Gonzalez[2], Calixto Dominguez[2], Rina Ortiz[3], Tomás Pérez-Acle[2], Patricio Huenchuñir[1] y Ricardo D. Moreno[3]. [1]Laboratorio de Química Médica, Departamento de Farmacia, Facultad de Química. [2]Centro de Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas. [3]Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. carlos@cgb.cl

Goals: To design, synthesize, and biologically evaluate calpain 2 inhibitors as antiapoptotic agents.
Methods: We have used a set of molecular simulations tools and pharmaceutical profiling tools, for the optimization of previously designed and synthesized molecules proved to inhibit calpain in an in vitro assay. The new compounds were tested in an in vivo model of germ cell apoptosis characterized by increased calpain activity. Using molecular biology techniques, the expression level of several calpain isoforms were quantified after testicular damage to determine the major isoform involved in this cell death model.
Results: The designed calpain inhibitors statistically reduce apoptosis in the heat-induced model of testis germ cell death, ranging from to 40-80% reduction of the number of apoptotic germ cells per seminiferous tubule. RT-PCR analysis of isoform expression levels shows that calpain testis specific isoform (Calpain 11) is repressed and that Calpain 2 is the major isoform involved in this cell death model and the inhibitors target.
Conclusions: We have developed new cell permeable calpain inhibitors with the ability to prevent in vivo apoptosis. These new inhibitor may have relevant clinical application as a new therapy for pathologies such as several types of cancer, particularly prostate.
Aknowledgements**:** Proyecto Fondecyt 1050965, 1070360 and Fundación Ciencia para la Vida.

(13) EFECTOS ANTIANGIOGÉNICOS NO ESPECIE-ESPECÍFICOS DE CALRETICULINA DE *Trypanosoma cruzi* (*Trypanosoma cruzi* non species-specific antiangiogenic effects) **Nandy López**, Juana Orellana, Carolina Valck, Galia Ramírez, Carolina Ribeiro, Ismael Maldonado, Arturo Ferreira. LIAM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. nandyl@yahoo.es

Objetivos. Calreticulina de *Trypanosoma cruzi* (TcCRT) es antiangiogénica *in vivo*, en membrana corioalantoídea de pollo. En este trabajo se determinó si éstos son especie-específico y algunos mecanismos celulares que lo median.
Metodología: Se estudió el efecto de TcCRT y su dominio N-terminal, en ensayos de morfogénesis *in vitro*, utilizando células endoteliales de cordón umbilical humano (HUVECs), y en ensayos *ex vivo*, cultivando anillos aórticos de rata. Se determinó el efecto de TcCRT sobre la adhesión de HUVECs a laminina, quimiotaxis, y de TcCRT y su dominio N-terminal sobre la proliferación celular. La unión de TcCRT a HUVECs se determinó por microscopía de fluorescencia.
Resultados: TcCRT y su dominio N-terminal inhibieron fuertemente la morfogénesis y angiogénesis en los ensayos *in vitro* y *ex vivo*. TcCRT no afectó la adhesión de HUVECs a laminina. TcCRT 1uM inhibe en 50% la quimiotaxis y en 40% la proliferación de HUVECs. Además TcCRT se une directa y específicamente a HUVECs.
Conclusiones: Dados los resultados obtenidos en tres especies (*Gallus gallus*, *Rattus norvegicus*, *Homo sapiens*), el efecto antiangiogénico de TcCRT no es especie-específico. Además esta proteína interfiere en tres fenómenos claves, probablemente derivados de su capacidad de penetrar las células endoteliales durante el proceso angiogénico: proliferación, migración y tubulogénesis. Los resultados de tubulogénesis y proliferación, sugieren que los efectos observados son mediados por el dominio N-terminal, el que interactuaría con HUVECs.
Agradecimientos. Becas CONICYT de doctorado y apoyo a Tesis (NL). Proy. Bicentenario de Anillos de Investig. ACT29 (AF).

(14) EVOLUTION OF THE INTERACTION BETWEEN RUNX2 AND VDR, TWO FACTORS INVOLVED IN OSTEOBLASTIC DIFFERENTIATION (Evolución de la interacción entre Runx2 y VDR, dos factores involucrados en la diferenciación osteoblástica) **Sylvain Marcellini(1)**, Carola Bruna(1), Juan-Pablo Henriquez(1), Ariel E. Reyes(2), Daniela Pérez-Munizaga(2), Ximena Koch(1), and Martin Montecino(1). (1)U. de Concepción. (2)Universidad Diego Portales. smarcellini@udec.cl

Objective: The genetic changes that led to the emergence of osteoblastic cells in the common ancestor of all vertebrates are unknown. In mammals, Runx2 and the Vitamin D Receptor (VDR) transcription factors interact together and activate the transcription of genes involved in extracellular matrix mineralization. We tested if the Runx2-VDR interaction **(1)** represents a recent mammalian innovation, or **(2)** results from ancient changes that occurred deep in the vertebrate lineage.
Methodology: We compared Runx2 and VDR orthologues from several vertebrates, including mammals, birds, amphibians and actinopterigyan fishes. We tested the evolution of their protein-protein interaction (by pull down assays) and of their expression in developing osteoblasts (by immunohistochemistry and in situ hybridisation).
Results: We have found that the interaction between Runx2 and VDR is conserved between actinopterygian fishes and mammals. We also show that all mammalian paralogous Runx genes (Runx1, 2 and 3) interact with VDR. Staining developing bones form a variety of vertebrates reveal the co-expression of Runx2 and VDR in differentiating osteoblasts.
Conclusions: Our results show that the physical interaction and the co-expression of Runx2 and VDR is evolutionarily conserved in osteichthyan vertebrates. We conclude that these two transcription factors were part of the molecular machinery specifying osteoblasts in the early days of vertebrate evolution: Runx2 and VDR belong to an ancient regulatory network that has been inherited by all vertebrate, including humans.
(Funding: FONDECYT 3060063)

(15) ROL DE LA COMUNICACIÓN INTERCELULAR EN LA SENSIBILIDAD A TRAIL EN TUMORES DE ENDOMETRIO Y OVARIO (Role of the intercellular communication in TRAIL sensitivity in endometrium and ovarian tumors) **Oliva B.,** Sáez C, Owen G., Cuello M. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. barbara.oliva@gmail.com

Introducción: El cáncer de endometrio y ovario son cánceres con alta frecuencia y mortalidad respectivamente. Se ha reportado que la expresión de Gap Junctions, formados por Conexinas, cambian durante el ciclo menstrual. Por otra parte TRAIL es un agente que produce apoptosis en células cancerosas y no en normales.
Objetivo: Determinar si la conexina 43 es regulada por hormonas esteroídeas y si tiene un rol en la muerte inducida por TRAIL en líneas de cáncer de endometrio (Ishikawa) y ovario (A2780).
Metodología: En células Ishikawa y A2780 se realizaron tratamientos hormonales con estrógeno (E_2), progesterona (P_4) y tratamientos conjuntos (10 nM y 1 µM, por 24 hrs.) y el efecto de estos tratamientos sobre la sensibilidad a TRAIL (4 hrs., 200 ng/mL), determinándose la expresión de Conexina 43 por western blot, su localización por inmunocitoquímica y funcionalidad con microinyección con amarillo Lucifer.
Resultados: Con P_4 se observa aumento en los niveles proteicos de conexina 43, cambia su localización hacia membrana y aumenta la funcionalidad en ambas líneas celulares. Con un pretratamiento hormonal con E_2 más P_4, se observa una mayor sensibilidad a TRAIL, por un aumento en el clivaje de PARP.
Conclusiones: Existe regulación hormonal de conexina 43 en líneas celulares de cáncer de endometrio y ovario, aumentando su expresión, funcionalidad y la sensibilidad en la respuesta a TRAIL.

(16) CROMOGRANINA B REGULA LA SECRECIÓN DE BNP EN CARDIOMIOCITOS (Chromogranin B regulates the BNP secretion in cardiomyocytes) **Javiera Osorio**, Francisco Altamirano y Manuel Estrada. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. iestrada@med.uchile.cl

Objetivos: La cromogranina B (CGB) esta asociada con gránulos secretores de células neuroendocrinas donde puede interactuar con el receptor para IP_3 (IP_3R). Por otra parte, BNP (*brain natriuretic peptide*) ha emergido como un importante marcador de riesgo cardiovascular. En este trabajo estudiamos la relación entre la CGB y la secreción de BNP en cardiomiocitos.
Metodología: Se utilizaron cultivos primarios de cardiomiocitos neonatos. La determinación de la CGB y del IP_3R realizó por western blot y su localización subcelular por inmunocitoquímica. Se usó 2APB como inhibidor del IP_3R y parvalbúmina como quelante del Ca^{2+} intracelular. Se utilizó un plasmidio para la sobreexpresión y siRNA para la inhibición de CGB. La secreción de BNP se determinó por ELISA.
Resultados: Se encontró que los cardiomiocitos expresan CGB y todas las isoformas del IP_3R. Analizando la localización subcelular, encontramos que la CGB es expresada en toda la célula con un patrón reticular en forma similar al IP_3R tipo 2. La inhibición del IP_3R o del Ca^{2+} intracelular disminuyó la secreción basal de BNP. La sobreexpresión de CGB aumenta la secreción de BNP, mientras que el uso de siRNA para CGB la disminuye.
Conclusiones: Este trabajo muestra la presencia de la CGB en cardiomiocitos y que modificaciones en los niveles de esta proteína, así como la inhibición del IP_3R o del Ca^{2+} intracelular producen cambios en la secreción de BNP. Estos resultados implican un papel para la CGB regulando la secreción de BNP, sugiriendo un importante mecanismo en la fisiología cardiovascular.

FONDECYT 1060077

(17) REGULACIÓN DE LA DINÁMICA MITOCONDRIAL POR CERAMIDA EN LA MUERTE DEL CARDIOMIOCITO (Regulation of mitochondrial dynamics by ceramide in the cardiomyocyte death) **Valentina Parra**, Verónica Eisner, Alfredo Criollo, Francisco Moraga, Mario Chiong, Cecilia Hidalgo, Enrique Jaimovich, Sergio Lavandero. Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile.

Objetivo
La fisión y fusión mitocondriales son procesos asociados tanto al metabolismo como muerte celular. En este trabajo se investigó si el esfingolípido C_2-ceramida altera la dinámica de la red mitocondrial, la expresión de proteínas de la fisión Fis1 y Drp-1, el potencial mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) y la muerte del cardiomiocito.
Metodología
En cultivos de cardiomiocitos tratados con C_2-ceramida se estudió la distribución y niveles de Fis1 y Drp-1 mediante Western blot. La fragmentación mitocondrial se evaluó mediante reconstrucción 3D de imágenes de mitocondrias. La muerte celular se analizó por citometría de flujo e inmunofluorescencia contra citocromo C, mientras que el $\Delta\Psi_m$ se midió con la sonda TMRM. Finalmente, se utilizó un adenovirus antisentido contra la proteína de la fusión Mfn2 (ASMfn2) y se evalúo su efecto en todos los parámetros anteriores.
Resultados
C_2-ceramida promovió la fragmentación de la red mitocondrial y el aumento de Drp-1 en la membrana mitocondrial externa. C_2-ceramida también estimuló una rápida caída en el $\Delta\Psi_m$ y la muerte celular por apoptosis. AsMfn2, no alteró el efecto de C_2-ceramida sobre la fragmentación ni la muerte, pero si modificó la caída en el $\Delta\Psi_m$, sugiriendo que C_2-ceramida modifica el metabolismo y la dinámica mitocondrial independiente de la muerte.
Conclusiones: C_2-ceramida modula la dinámica de la red mitocondrial, la distribución y expresión de Fis1 y Drp-1, el $\Delta\Psi_m$ y la muerte del cardiomiocito
FONDAP 15010006, FONDECYT 3070043.

(18) PROTEÍNA Herp EN LA MUERTE INDUCIDA POR ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO (Herp in endoplasmic reticulum stress-induced cell death) **Clara Quiroga,** Claudio Hetz, Sergio Lavandero. Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile.

Objetivos: El Estrés del Retículo Endoplásmico (ERE) generado por acumulación de proteínas mal plegadas activa una respuesta adaptativa conocida como UPR, la cual regula la transcripción de diversos genes entre los que se encuentra *herp*. La proteína Herp se localiza en la membrana del RE y su función en la UPR se desconoce.
Metodología: Líneas celulares se estimularon con tunicamicina (Tn, 1 μg/mL) o tapsigargina (Tg, 1 μM) por 6 h y se evaluaron los marcadores de ERE (CHOP, BiP p-JNK y p-eIF2α) y la expresión de Herp por RT-PCR y WB. Se diseñaron shRNA para Herp insertos en vectores lentivirales y se produjeron células que expresaban estas moléculas en forma estable. La viabilidad se evaluó por FACS mediante marcaje con DiOC/PI o AnexinaV/PI.
Resultados: Tg y Tn aumentaron los niveles de los distintos marcadores del ERE. Además los niveles de Herp aumentaron significativamente ya sea por activación de las vías PERK o IRE1α. El aumento de Herp se confirmó por RT-PCR. Dos clones de shRNA para Herp mostraron efectos en la expresión de la proteína, observándose diferencias en la viabilidad de células knock-down para Herp respecto a las células control.
Conclusiones: Herp parece clave en la UPR pues su expresión en condiciones de estrés correlaciona con efectos adaptativos, aunque ella no es exclusiva de una sola vía transductional de la UPR. Aún resta por determinar el efecto de la sobreexpresión de Herp en la sobrevida celular.
Proyectos FONDAP 15010006 (SL, CH), FONDECYT 1070444 (CH)
CQ es becaria CONICYT.

(19) TESTOSTERONA INDUCE HIPERTROFIA CARDIACA A TRAVÉS DE MODIFICACIONES DEL Ca^{2+} INTRACELULAR (Cardiac hypertrophy induced by testosterone involves intracellular Ca^{2+} changes) **Jessica Rivera**, Francisco Altamirano, Cesar Oyarce y Manuel Estrada. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. iestrada@med.uchile.cl

Objetivos: La testosterona se asocia con hipertrofia cardiaca, pero los mecanismos de transducción de señales involucrados son pobremente conocidos. En este trabajo estudiamos los efectos de la testosterona sobre el Ca^{2+} intracelular y su relación con marcadores de hipertrofia cardiaca**.**
Metodología: Se utilizaron cultivos primarios de cardiomiocitos neonatos. Las variaciones del Ca^{2+} intracelular se determinaron con el colorante fluorescente Fluo4 usando microscopia confocal. Se estudiaron α-actina esquelética (SKA) y β-MHC como marcadores de hipertrofia. Para determinar la participación de Ca^{2+} intracelular los cardiomiocitos fueron transfectados con plasmidios que generan una proteína de fusión Parvalbúmina (PV) con localización nuclear (PV-NLS) o citoplasmática (PV-NES).
Resultados: Se determinó que la testosterona (100 nM) produce aumentos rápidos del Ca^{2+} intracelular y que en células transfectadas con los plasmidios PV-NLS y PV-NES este aumento fue inhibido. La estimulación de los cardiomiocitos con testosterona resultó en un aumento de la expresión de β-MHC (12h) y SKA (24h) en forma dependiente de la concentración de la hormona. En células transfectadas tanto con la PV citosólica como la PV nuclear el aumento de la expresión de β-MHC y SKA fue inhibida.
Conclusiones: El aumento de estos marcadores ha sido asociado con eventos tempranos en la progresión a un fenotipo hipertrófico en células cardiacas. Estos resultados sugieren que la testosterona produce un aumento de las proteínas marcadores de hipertrofia cardiaca y tanto el Ca^{2+} citosólico como nuclear son requeridos para la expresión máxima de estas proteínas.
FONDECYT 1060077

(20) MECANISMOS MEDIANTE EL CUAL 2-METOXIESTRADIOL INDUCE APOPTOSIS EN CÉLULAS CANCERÍGENAS Y NO EN CÉLULAS NORMALES DEL TRACTO REPRODUCTIVO FEMENINO (Mechanism by which 2-methoxyestradiol induces apoptosis in cancerous but not healthy cells of the female reproductive tract) **Sadarangani A,** Kato S, Cuello M y Owen G.I. Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile.

Entre los cánceres ginecológicos dependientes de hormonas esteroidales, se encuentran los cérvico-uterinos, de cuerpo uterino y ovario. Hemos demostrado que los agentes anti-tumorales TRAIL y $2ME_2$ son capaces de inducir apoptosis en cánceres derivados del tracto reproductivo femenino sin afectar células normales
Objetivos: Investigar las vías de activación apoptótica y el mecanismo responsable de la selectividad de TRAIL y $2ME_2$. Comparar su efectividad con agentes quimioterapéuticos.
Metodología: Mediante RT-PCR se determinó la presencia de los receptores de TRAIL, el efecto de $2ME_2$ sobre los niveles de SOD tipo I y de 17βHSD. Por transfecciones transientes se determinaron las vías de activación apoptótica. Mediante ensayos de viabilidad celular (MTS) se compararon la efectividad citotóxica de las quimioterapias contra TRAIL y $2ME_2$.
Resultados: $2ME_2$ regula de manera diferencial los niveles de SOD tipo I y de 17βHSD tipo II en células normales vs cancerígenas. TRAIL actúa a través de la vía extrínseca, mientras que $2ME_2$, actúa a través de ambas vías. La efectividad de la combinación de TRAIL y $2ME_2$, es similar a las quimioterapias evaluadas en cáncer endometrial, sin afectar las células normales.
Conclusiones: La selectividad del $2ME_2$ estaría dada por la regulación diferencial de la SOD tipo I y de 17βHSD tipo II. TRAIL y $2ME_2$ están actuando a través de vías distintas y podrían ser utilizados como terapia en el tratamiento del cáncer endometrial.

(21) PARTICIPACIÓN DE MeCP2 EN LA REGULACIÓN DE LA CAPACIDAD REPLICATIVA (Role of MeCP2 in the regulation of replicative capacity) **Alexandra Saona**[a,b], Mauricio Sáez[a,b], Matías Alvarez[a] Bradford Kerr[a] y Juan Young[a]. (a) Centro de Estudios Científicos, (b) Universidad Austral de Chile.

Objetivo: Las células normales tienen una capacidad replicativa finita. En cultivo, esto se evidencia por un arresto proliferativo irreversible luego de un numero finito de divisiones, denominado senescencia replicativa. La disminución progresiva de la capacidad replicativa se correlaciona con acortamiento de los telómeros y disminución en los niveles globales de metilación del DNA. MeCP2 (Methyl-CpG-binding protein 2) es un represor transcripcional que se une a sitios CpG metilados, remodela cromatina y silencian la expresión de genes. Dado que MeCP2 se une al DNA metilado y que la dinámica de metilación del DNA es importante en el proceso de senescencia replicativa, nuestro objetivo es determinar si células provenientes de ratones mutantes para MeCP2 presentan alteraciones en los procesos de proliferación celular y senescencia.
Metodología: La capacidad replicativa de fibroblastos embrionarios provenientes de ratones mutantes para MeCP2 y silvestres fue determinada mediante curvas de crecimiento e incorporación de BrdU (Bromodeoxiuridina). La actividad β-galactosidasa asociada a senescencia fue también determinada en estos cultivos.
Resultados: Las curvas de crecimiento muestran que los fibroblastos mutantes para MeCP2 tienen mayor capacidad replicativa que fibroblastos obtenidos de ratones silvestres. Además, se observó un aumento en el número de células positivas para BrdU en cultivos de fibroblastos mutantes para MeCP2 en comparación a silvestres.
Conclusión: MeCP2 participa en la regulación de los parámetros proliferativos. Estos resultados sugieren la posible participación de células somáticas en la sintomatología del síndrome de Rett, causado por mutaciones en MeCP2.

(22) E-CADHERIN IS REQUIRED FOR CAVEOLIN-1-MEDIATED DOWN-REGULATION OF THE INHIBITOR OF APOPTOSIS PROTEIN SURVIVIN VIA REDUCED β-CATENIN-Tcf/Lef-DEPENDENT TRANSCRIPTION (Caveolina-1 requiere E-caderina para regular negativamente a survivina via reducción de la transcripción dependiente de β-catenina-Tcf/Lef) Vicente Torres, **Julio Tapia**, Diego Rodriguez, Alvaro Lladser, Cristian Arredondo, Lisette Leyton and Andrew Quest FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Facultad de Medicina, U. de Chile. aquest@med.uchile.cl

Objective. Caveolin-1 acts as a tumor suppressor by reducing survivin expression via a β-catenin-Tcf/Lef-dependent transcriptional pathway. However, this mechanism is not operative in all cells. The objective was to identify the molecular mechanisms underlying such radical differences.
Methodology. Subcellular localization of E-cadherin, β-catenin, caveolin-1 and survivin were analyzed by confocal microscopy and subcellular fractionation. Survivin mRNA and protein levels were determined by RT-PCR and Western-blotting, respectively. Transcriptional activity of β-catenin was evaluated using a Top/Fop-Flash reporter assay. Cells were transfected with an E-cadherin-encoding plasmid (pBATEM) using Superfect®. Cell viability and apoptosis were determined by the MTS® assay and flow cytometry.
Results. Unlike HT29(ATCC) cells, metastatic HT29(US) cells expressed low amounts of E-cadherin that localized to the cytoplasm rather than the plasma membrane. Re-expression of E-cadherin in HT29(US) cells restored the ability of caveolin-1 to down-regulate both β-catenin-Tcf/Lef-dependent transcription as well as survivin mRNA and protein levels. Additionally, co-immunoprecipitation and co-localization between caveolin-1 and β-catenin increased upon E-cadherin expression. In HEK293T and HT29(US) cells, caveolin-1 and E-cadherin cooperated in suppressing β-catenin-Tcf/Lef-dependent transcription and survivin expression. Similar effects were observed in mouse melanoma B16-F10 cells, another metastatic cell model with low endogenous caveolin-1 and E-cadherin levels.
Conclusion. Absence of E-cadherin severely compromises the ability of caveolin-1 to develop activities potentially relevant to its role as a tumor suppressor.

(23) IGF-1 INHIBE LA AUTOFAGIA DEL CARDIOMIOCITO INDUCIDA POR PRIVACIÓN DE NUTRIENTES (IGF-1 inhibits cardiomyocyte autophagy stimulated by nutrient deprivation) **Rodrigo Troncoso**, Sergio Lavandero. Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula, Facultades Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Medicina, U. de Chile. troncoso.r@gmail.com

Objetivo: La autofagia es un proceso fisiológico clave para la sobrevida celular durante la privación de nutrientes, diferenciación y desarrollo. El factor de crecimiento análogo a insulina tipo 1 (IGF-1) promueve la hipertrofia e inhibe la muerte del cardiomiocito. Nuestro laboratorio describió previamente que la autofagia se activa rápidamente en cardiomiocitos privados de nutrientes, desconociéndose sin embargo si ella podría ser bloqueada por IGF-1.
Metodología: Cultivos primarios de cardiomiocitos de rata se privaron de nutrientes entre 6 y 48 h en presencia o ausencia de IGF-1 (10 nM). La autofagia se evaluó en cardiomiocitos previamente transducidos con un adenovirus AdGFP-LC3. este procedimiento permite la expresión de la proteína GFP-LC3 y cuando el proceso autofágico se activa se observa su recolocalización en vesículas. La perdida de viabilidad del cardiomiocito se determinó mediante la permeabilidad celular al yoduro de propidio y citometría de flujo. Los niveles de proteína beclin-1 se midieron por Western blot.
Resultados: La privación de nutrientes aumentó en un 30% la cantidad de cardiomiocitos que presentan vacuolas autofágicas, corroborándose lo observado previamente por microscopía electrónica. La viabilidad celular disminuyó en 20 y 30% a las 24 y 48 h, respectivamente. IGF-1 previno significativamente la formación de vacuolas y recuperar la viabilidad de cardiomiocitos privados de nutrientes. No se observaron cambios en los niveles de beclin-1.
Conclusiones: La privación de nutrientes activa la autofagia y disminuye la viabilidad del cardiomiocito, siendo ambos efectos prevenidos por IGF-1.
FONDAP 15010006

(24) *Helicobacter pylori* DOWNREGULATED SURVIVIN EXPRESSION AND PROMOTED APOPTOSIS IN GASTRIC CANCER CELLS (*Helicobacter pylori* disminuye la expresión de Survivina y promueve apoptosis en células de cáncer gástrico) **Manuel Valenzuela**, Guillermo Perez-Perez**#,** Lisette Leyton*, Héctor Toledo H§, and Andrew F G Quest*. *FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC) and **§**Lab. of Molecular Microbiology, Fac. de Medicina, U. de Chile, Santiago, Chile. #Dep. of Medicine, New York U. School of Medicine, New York, New York, USA. aquest@med.uchile.cl

Objetive *Helicobacter pylori* is a human pathogen that induces chronic apoptosis and atrophy of the gastric mucosa. Both are considered early events in the genesis of gastric cancer. The inhibitor of apoptosis protein Survivin is expressed in normal gastric mucosa. Here, we studied the role of Survivin in modulating apoptosis in gastric cancer cells co-cultured with *H. pylori*.
Methodology: Gastric cancer cell lines (MKN45 and AGS) or stably transfected cells with a survivin-encoding plasmid (pEGFP-survivin) were co-cultured with different *H. pylori* strains for different periods of time in the presence or absence of antioxidant agents. Changes in protein levels of Survivin, Bcl-xl and Bcl-2 were assayed by Western blotting. Apoptosis and viability were determined by DNA laddering and MTS assays, respectively.
Results Infection with *H. pylori* decreased Survivin levels but not other anti-apoptotic proteins like Bcl-2 and Bcl-xl, and induced DNA fragmentation (apoptosis) in MKN45 and AGS cells. Incubation with isogenic *vacA* and *cagA H. pylori* mutants revealed that these bacterial factors were not crucial in this response. Ectopic expression of Survivin following transfection with pEGFP-survivin and antioxidant treatment abolished DNA fragmentation in response to *H. pylori* infection.
Conclusions: *H. pylori* induced apoptosis of gastric cancer cells involves formation of reactive oxygen species and loss of Survivin expression
Supported by: FONDAP 15010006 (AFGQ), Fondecyt 1070699 (LL), and a MECESUP 115 PhD Student Fellowship (MV).

(25) CARACTERIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE RUNX2 Y CBFβ A TRAVÉS DEL CICLO CELULAR EN UNA LÍNEA CELULAR ÓSEA OBTENIDA DE CRÁNEO DE EMBRIÓN DE RATA (Characterization of RUNX2 and CBFB expression throught cell cycle in a rat embryo cranial bone derived - cell line)
Karina Villegas[1], Inga San Martín[1], Amjad Javed[2] Jane Lian[3], Janet Stein[3], Gary Stein[3], Andre van Wijnen[3], Mario Galindo[1]. [1]Programa de Biología Celular y Molecular ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [2]Institute of Oral Health Research, School of Dentistry, University of Alabama. [3]Department of Cell Biology and Cancer Center, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, USA. karinavillegasl@gmail.com

Objetivo: En osteogénesis de mamíferos, Runx2 tiene un rol dual, promueve la salida del ciclo celular y la diferenciación ósea en una etapa postproliferativa. Además, la expresión de Runx2 en preosteoblastos es regulada por el ciclo celular. Runx2 heterodimeriza con CbfB, co-factor que también es necesario para la diferenciación ósea. Se desconoce si la expresión de CbfB es regulada a través del ciclo celular. Como modelo de estudio para proliferación y diferenciación ósea, osteoblastos inmaduros de un cultivo primario de cráneo de embrión de rata fueron inmortalizados para obtener la línea celular ROBmtert. Nos propusimos caracterizar la expresión de Runx2 y CbfB a través del ciclo celular en ROBmtert y compararla con la línea celular de preosteoblastos de ratón (MC3T3).
Metodología: En cultivos sincrónicos, los niveles de mRNA para Runx2 y CbfB fueron determinados por semiq-PCR y northern blot.
Resultados: Nuestros datos muestran que la fluctuación de los niveles mRNA para Runx2 y CbfB a través del ciclo celular son similares en ambas líneas.
Conclusiones: Esto validaría el uso de ROBmtert en futuros estudios referentes a la función antiproliferativa de Runx2.
Financiamiento: Fondecyt 1040772

(26) BDNF INCREMENTA LA EXPRESIÓN DE RyR Y DE SU RECEPTOR TrkB EN NEURONAS DE HIPOCAMPO (BDNF increases the expression of RyR and TrkB in hippocampal neurons)
[§]**Adasme, T.**, [‡]Olivero, P., [§]Haeger, P., [§]Leal, N., [§]Carrasco, MA. & [§]Cecilia Hidalgo. [‡]ICVR, Universidad de Valparaíso, [§]CEMC, ICBM. Fac. de Medicina. U. de Chile. tadasme@ciq.uchile.cl

Objetivos: La plasticidad sináptica inducida por actividad se refleja en modificaciones de la eficacia de la transmisión sináptica. Cambios a largo plazo, que requieren síntesis de proteínas para nuevas sinapsis, están relacionados con procesos de aprendizaje y memoria. La activación del receptor de ryanodina (RyR) participa en el crecimiento de espinas dendríticas. En hipocampo, la activación de TrkB con BDNF moviliza Ca^{2+}, activa factores transcripcionales y aumenta la expresión de RyR2 promoviendo la formación de espinas dendríticas. El propósito de nuestro trabajo es indagar si los cambios morfológicos que genera BDNF requieren aumentos de la expresión de RyR y TrkB.
Metodología: Neuronas hipocampales fueron incubadas con BDNF y analizadas por PCR, inmunofluorescencia y mediciones de señales de calcio intracelular.
Resultados: La incubación con BDNF incrementó la expresión de los transcritos de RyR2, RyR3 y TrkB. Además, aumentó significativamente la expresión *in situ* de RyR3. Experimentos preliminares indican que neuronas incubadas con BDNF generan señales de calcio de mayor amplitud en respuesta a agonistas de RyR, sugiriendo que BDNF aumenta la expresión de RyR funcionales.
Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que incrementos de la expresión de TrkB y de RyR inducidos por BDNF forman parte de los mecanismos moleculares que subyacen la formación de nuevas sinápsis y la inducción de plasticidad sináptica por BDNF.
FONDAP 15010006 FONDECYT 1060177

(27) EFECTO DIFERENCIAL DE ALDOSTERONA SOBRE LA GENERACIÓN DE ROS EN CÉLULAS MONONUCLEARES Y CARDIOMIOCITO (Differential effect aldosterone in ROS generation in mononuclear cells and cardiac myocytes)
Jessica Díaz-Elizondo, Magdalena González, Claudio Olea-Azar, Luis Michea, Sergio Lavandero. Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula. Facultades de Medicina y Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Objetivo El estrés oxidativo y la inflamación se consideran potenciales mecanismos de desarrollo de daño cardiovascular inducido por aldosterona. En este trabajo se estudió si aldosterona (ALDO) estimula la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en células mononucleares de sangre periférica (MNSP) y cardiomiocitos de rata, potenciales blancos directos de la acción de aldosterona.
Metodología: Las células MNSP se separaron por centrifugación en gradiente de ficol. Se determinó la abundancia del mRNA para el receptor de mineralocorticoides (MR) mediante PCR en tiempo real en MNSP y tejido cardíaco. Se obtuvieron cardiomiocitos por digestión enzimática. Ambos tipos celulares se incubaron en presencia de ALDO (0,1 a 100 nM). Se midieron las ROS por espectrofluorimetría con DCF-DA y por resonancia de spin electrónico (ESR), usando DMPO como atrapador.
Resultados: La abundancia del mRNA para MR en las MNSP es 78 veces mayor que en el corazón. ALDO (100 nM por 15 min) aumentó 2,5 veces la fluorescencia relativa en las MNSP de rata. Sin embargo, ALDO no estimuló la generación de ROS en los cardiomiocitos en ninguna de las condiciones ensayadas. Esto último se confirmó por ESR.
Conclusiones: La estimulación aguda con ALDO induce la producción de ROS en MNSP. La diferencia en la abundancia relativa de MR correlaciona con la generación de ROS inducida por ALDO. El curso temporal de la acción de ALDO sugiere mecanismo de acción no genómico en MNSP.
FONDECYT 1050690 (LM) y FONDAP 1501006 (SL, LM)

(28) CARBONILACIÓN DEL RECEPTOR DE RYANODINA (RyR2) DURANTE ISQUEMIA/REPERFUSIÓN EN EL CARDIOMIOCITO (Carbonylation of ryanodine receptor (RyR2) during ischemia/reperfusion in cardiomyocyte)
Zully Pedrozo[1], Gina Sánchez[1], Sergio Lavandero[1,2], Paulina Donoso[1]. [1]Centro FONDAP CEMC, Fac. de Medicina y [2]Fac. de Cs. Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile.

Los receptores de ryanodina (RyR2) son canales de calcio del retículo sarcoplasmático cruciales en el acoplamiento excitación-contracción del corazón. El RyR2 se degrada durante la isquemia/reperfusión (I/R), desconociéndose la señal que lo modula. El estrés oxidativo generado en I/R produce carbonilación de proteínas del cardiomiocito produciendo cambios estructurales irreversibles, pérdida de función y degradación proteica.
Objetivo Determinar si la I/R produce carbonilación y ubiquitinización del RyR2 en el cardiomiocito.
Metodología: Se utilizaron 2 modelos experimentales: vesículas enriquecidas en retículo sarcoplasmático desde ventrículo de perros adultos sometidos a I/R y cultivos primarios de cardiomiocitos de rata expuestos a I/R simulada (hipoxia y privación de nutrientes). La carbonilación y ubiquitinación del RyR2 se determinaron por Western Blot.
Resultados: Cultivos de cardiomiocitos se expusieron a 4 h de isquemia y 4 h de reperfusión con aproximadamente 15% de muerte respecto al control. En ambos modelos estudiados de I/R hubo aproximadamente un 40% de degradación del RyR2, en tanto la carbonilación de dicha proteína aumentó al doble pero no se detectó de ubiquitinación del canal.
Conclusión*:* La carbonilación del RyR2 durante la I/R, podría ser la señal responsable de la degradación del RyR2, en tanto la ubiquitinación no jugaría un papel importante en dicho evento. La pérdida de dicha proteína puede contribuir a la disfunción del retículo sarcoplasmático observada luego de I/R del cardiomiocito.
FONDAP 1501006

(29) PROGESTERONA AUMENTA LOS NIVELES Y LA ACTIVIDAD DEL ONCOGEN PAR-1 EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA. (Progesterone increases the levels and the activity of the oncogene PAR-1 in breast cancer cells.) **Aranda-Jaque E**. y Owen, G.I. Unidad de Reproducción y desarrollo, Pontificia Universidad Católica de Chile. ejaranda@puc.cl

Objetivo: Progestinas exógenas (P_4) aumentan la incidencia del cáncer de mama. La sobre-expresión de los receptores activados por proteasas (PARs) se asocia con un aumento en el crecimiento y la metástasis de estas células tumorales. En este estudio nos propusimos identificar si P_4 aumenta los niveles de los PARs y la actividad de estas proteínas.
Metodología: Se realizaron RT-PCRs para identificar la presencia de PAR-1 y -2 en las líneas celulares de cáncer de mama ZR-75 y T47-D. Para determinar si P_4 modifica los niveles de PAR-1 y -2, se aplicaron tratamientos con la hormona en un curso temporal. Finalmente, se analizó la fosforilación de MAPKs activadas por cada PAR en presencia y ausencia de progesterona.
Resultados: PAR-1 y -2 fueron expresados en ambas líneas celulares. P_4 aumentó los niveles de PAR-1 tanto a nivel de ARNm como de proteína. P_4 no modificó los niveles de ARNm de PAR-2 ni la actividad de su proteína. Ambos PARs están activos, sin embargo, los pre-tratamientos con P_4 prolongaron el aumento en la fosforilación de ERK-1 y -2 inducidos por la activación de PAR-1.
Conclusiones: Se demuestra por primera vez que P_4 aumenta los niveles y la actividad de PAR-1 en células de cáncer de mama. Estos resultados sugieren que PAR-1 podría participar en el aumento de la incidencia de cáncer de mama en mujeres tomando progestinas exógenas.

(30) LA CONCENTRACIÓN EXTRACELULAR DE VITAMINA C REGULA LA POLARIZACIÓN APICAL DE SVCT1 EN EL TÚBULO PROXIMAL (Extracellular concentration of vitamin C regulates SVCT1 apical polarization in proximal cells) **Tamara Castro**, Hernán Montecinos, Juan Pablo Henríquez, Francisco Nualart. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción.

Objetivos: Analizar la localización renal y función del transportador de vitamina C SVCT1 durante la vida post-natal (ratón/humano) y en un modelo celular polarizado de túbulo proximal (LLC-PK1).
Metodología: Se utilizaron técnicas de RT-PCR e inmunocitoquímica asociada a microscopía confocal para definir los niveles de SVCT1 en el tejido renal post-natal y en células LLC-PK1 post-confluentes cultivadas con distintas concentraciones de vitamina C. Los estudios de localización fueron complementados con estudios funcionales para caracterizar los niveles de captación de ácido ascórbico.
Resultados: SVCT1 es inducido durante la vida post-natal, comenzando su expresión el día post-natal 5. SVCT1 se expresa a diferentes niveles en los segmentos S1, S2 y S3, siendo el segmento S3 el que presenta la mayor concentración del transportador. SVCT1 se observó polarizado apicalmente *in situ* e *in vitro*. Los ensayos funcionales en células LLC-PK1 mostraron que la polarización apical y la captación de vitamina C es directamente regulada por la concentración extracelular de ácido ascórbico. Altas concentraciones de vitamina C (similar a segmento S1), mostraron un bajo nivel de polarización de SVCT1, sin embargo, se determinó una elevada captación de ácido ascórbico.
Conclusiones Este estudio mostró que la incorporación de AA en las células del túbulo proximal está fundamentalmente regulada por las concentraciones extracelulares de AA y no por los niveles de SVCT1 apicalmente polarizado.
Financiado por Anillo ACT-02.

(31) EVENTOS DE TRÁFICO VESICULAR INVOLUCRADOS EN LA EXPRESIÓN DEL CANAL DE CLORURO CLC-2 EN LA SUPERFICIE CELULAR (Vesicular traffic events involved in the cell surface expression of the ClC-2 chloride channel) **Isabel Cornejo**[1,2] Francisco V. Sepúlveda[1] y Pablo Cid[1]. [1]Centro de Estudios Científicos (CECS) y [2]Universidad Austral de Chile. pcid@cecs.cl

Objetivos: Los objetivos de este trabajo fueron analizar los eventos de tráfico vesicular que participan constitutivamente en mantener los niveles de ClC-2 en la superficie celular e identificar determinantes estructurales del canal involucrados.
Metodología: Se utilizó células HEK-293 expresando constitutivamente el canal recombinante humano hClC-2 marcado con la proteína fluorescente verde GFP en su extremo C-terminal o con un epitopo de hemaglutinina HA en un lazo extracelular. El canal de la superficie se marcó por biotinilación o por anticuerpos dirigidos hacia el epitopo HA. Su detección se realizó por Western blot y por un método quimioluminiscente cuantitivo.
Resultados: Se demostró que el canal es activamente insertado en la superficie y altamente internalizado. Esta internalización está determinada en gran parte por un motivo de endocitosis basado en tirosina (Y179). Por coexpresión del canal con una dominante negativa de Rab5 (Q79L), se confirmó que el canal ingresa a endosomas Rab5 positivos, sugiriendo un papel de clatrina en la internalización. Modificando la función endosomal por alcalinización ó inhibición de la PI3K, se observó que los niveles del canal de la superficie disminuyen, sugiriendo que recicla a la superficie. Este reciclamiento fue confirmado por la técnica de biotinilación.
Conclusiones: El canal ClC-2 es constitutivamente endocitado y reciclado a la superficie. Su internalización depende en parte de un motivo del tipo Yxx ubicado en un lazo intracelular de la proteína del canal.

(32) IDENTIFICACIÓN DEL RECEPTOR DE INSULINA EN AISLADOS DE TUBULOS CONTORNEADOS PROXIMALES DESDE RIÑÓN DE RATAS NORMALES Y DIABETICAS (Expression of insulin receptor in isolated proximal tubules from diabetic and normal rat kidney) **Rodrigo Gatica.,** Juan Carlos Slebe, Mónica Salas y Alejandro Yañez. Instituto de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. Programa Doctorado en Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. rodrigogatica@uach.cl

Objetivos: Se determinó la expresión del receptor de Insulina (RI) en túbulo contorneado proximal (TCP). La localización renal de dicho receptor solo ha sido determinada mediante RIA. Sin embargo, no se conoce si existe una compartimentalización de RI y si, su expresión sufre algún cambio en estados diabéticos lo que estaría en correlación con los cambios reportados de las enzimas gluconeogénicas.
Metodología: Se monto un método de purificación que permite obtener a partir de corteza renal, un extracto con un 90% de pureza determinado mediante la utilización de anticuerpos específicos para TCP y un 90% de sobrevivencia sin encontrarse los extractos contaminados con glomérulos. Para determinar la expresión de RI en TCP, se realizaron RT-PCR y Western blot.
Resultados: El análisis mediante RT-PCR y Western blot de las muestras permitió identificar el RI en TCP de ratas normales y diabéticas, observándose un aparente aumento en la expresión de RI a nivel de TCP de ratas diabéticas.
Conclusiones: Nuestros resultados muestran la factibilidad de purificación de TCP viables, que permitirán realizar diversos estudios entorno a la expresión de enzimas gluconeogénicas y glicogénicas desde extractos y someterlos a diversas condiciones en cultivo celular. Se pudo determinar exitosamente la expresión del RI y mediante PCR en tiempo real se confirmara la diferencia en la expresión en ratas diabéticas.
FONDECYT: 1051057, 1051122. DID-UACH: 2006-13. PBCT/CONICYT IPA: 005.

(33) LA INHIBICIÓN *IN VIVO* DE GLUCOQUINASA CEREBRAL AFECTA EL COMPORTAMIENTO DE SACIEDAD (*In vivo* glucokinase inhibition affects the saciety behaviour) **Fernando Martínez**, Carola Millán, Christian Cortés, Francisco Nualart, María de los Angeles García. Anillo de Investig. para el Estudio del Sist. Nervioso, Biol. Celular y Aplicaciones Biomédicas. Depto. de Biol. Celular, U. de Concepción. femartin@udec.cl

Objetivos: Hemos postulado que glucoquinasa (GK) es fundamental para el mecanismo sensor de glucosa en la glia periventricular (tanicitos) del hipotálamo. De esta forma, inhibimos *in vivo* la expresión de glucoquinasa en la glia periventricular para evaluar cambios en el comportamiento alimenticio.
Metodología: Se utilizó un adenovirus-GFP (Ad-GFP) para estandarizar la inyección estereotáxica cerebral y determinar la capacidad del virus para infectar la glia periventricular en ratas, reconocida usando anti-vimentina. Posteriormente se inyectó el Ad-GK-siRNA para inhibir la expresión de glucokinasa. Se midió la ingesta alimenticia durante los primeros tres días y los siguientes se evaluaron respuestas de saciedad en ciclos de ayuno (24h) y alimentación. Además, se evaluó la expresión de glucoquinasa mediante qRT-PCR e inmunohistoquímica.
Resultados: La co-localización con vimentina demostró que los tanicitos α y β1 fueron rápidamente infectados (12h) con Ad-GFP. La mayor expresión de GFP se logró después de 24 h. La infección con Ad-GK-siRNA produjo una disminución de la marca para glucoquinasa. Cuando se realizaron los ciclos de ayuno y alimentación, se observó que los animales inyectados con Ad-GK-siRNA presentaron un retardo marcado en la saciedad. Este resultado fue similar por 2 ciclos, posteriormente el efecto fue perdido, como también la marca para GFP.
Conclusiones: El mecanismo sensor de glucosa cerebral, mediado por la expresión de glucoquinasa en los tanicitos, estaría fundamentalmente asociada a la regulación de la saciedad.
Proyecto Anillo ACT-02.

(34) PRESENCIA DE TRANSPORTADORES DE ÁCIDO ASCÓRBICO, SVCTs, DURANTE EL DESARROLLO DE LA LÍNEA GERMINAL MASCULINA (Presence of ascorbic acid transporters, SVCTs, in male germ line development) **Eduardo Pulgar**, Héctor Mancilla, Alfredo Ramírez, Constanza Angulo, Romina Bertinat, Alejandro Yañez, Juan Carlos Slebe, Maite Castro e Ilona I. Concha, Inst. de Bioquímica, U. Austral de Chile. conchagrabinger@uach.cl

Objetivo*:* El ácido ascórbico (AA) es esencial en el desarrollo de la línea germinal masculina. Este se distribuye ampliamente en el organismo, concentrándose altamente en determinados tejidos gracias a la expresión de transportadores de AA (SVCTs). Ya que el AA es un potente antioxidante, en este trabajo propusimos evaluar la expresión de SVCTs durante el desarrollo del sistema reproductor de rata, y en espermatocitos paquiténicos, espermátidas redondas y espermatozoides aislados de ratas pre púber y púber, respectivamente. Además, evaluamos el efecto de la vitamina C en las células espermatogénicas frente a un daño oxidativo causado por H_2O_2.
Metodología*:* Utilizamos cortes de testículo de rata de diferentes edades, células germinales de rata separadas por un gradiente lineal de BSA y espermatozoides aislados desde epidídimo. La expresión de los transportadores fue evaluada por análisis de inmunocitoquímica, Western blot o RT-PCR, dependiendo del caso.
Resultados*:* Observamos la expresión de SVCT1 en cortes de testículo en todas las edades analizadas. La expresión de SVCT2 fue detectable recién a partir de la segunda semana de desarrollo. Estudios de expresión de SVCT1 y SVCT2 en las células aisladas confirmaron los hallazgos obtenidos en tejido. Posteriormente, las células germinales cargadas con vitamina C fueron sometidas a diferentes concentraciones de H_2O_2. La viabilidad fue medida por anexina V y exclusión de azul de tripán.
Conclusión*:* Las células germinales masculinas expresan transportadores de AA, los cuales podrían cumplir una función protectora durante la espermatogénesis. (FONDECYT1060135)

(35) A SURVIVIN DNA VACCINE COMBINED WITH TOLL-LIKE RECEPTOR AGONISTS REDUCED MELANOMA GROWTH IN C57BL/6 MICE (Una vacuna de DNA combinada con ligandos para receptores tipo toll que reduce el crecimiento de melanomas en ratones C57BL/6) **Lorena Aguilar**[1,2], Álvaro Lladser[1], Lorena Lobos[1], Arturo Ferreira[2], Andrew Quest[1]. [1]FONDAP, Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC) and [2]Laboratory of Immunology of Microbial Aggression, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. aquest@med.uchile.cl

Objective: The anti-apoptotic protein Survivin is frequently over expressed in human cancers and is required for tumor survival. Here we evaluated whether immunization of C57BL/6 mice with Survivin encoding plasmids protects mice against subcutaneous tumor formation by B16-F10 melanoma cells.
Methodology Survivin encoding plasmids were injected with or without ligands for Toll-like receptors (dsRNA analog Poly(I:C) and CpG oligonucleotides) as molecular adjuvants. Several groups of mice were immunized: 1) control (-) = physiological solution; 2) pcDNA3.1+TLR-L; 3) pcDNA-survivin; 4) pcDNA-survivin+TLR-L; 5) pSec-survivin+TLR-L. Following two prophylactic immunizations (day 0 and 7), the animals were injected (day 14) subcutaneously with highly aggressive B16-F10 melanoma cells. Tumor grow was recorded during 3 weeks.
Results Significantly decreased tumor growth was observed in the mice immunized with pcDNA-Survivin, but not pSec-Survivin. Including TLR-Ls as adjuvants reduced tumor growth further and prolonged animal survival.
Conclusions: The use of Survivin in prophylactic immunizations with naked DNA vaccine together with TLR-Ls reduced growth of malignant melanoma cells in mice C57BL/6 and prolonged lifespan of the animals, but did not protect from death.
Supported by FONDAP grant 15010006 (AFGQ), ICGEB grant CRP/CH102-01 (RB and AFGQ), Bicentennial Project of Investigation Rings ACT29 (AF) and CONICYT Ph.D. Fellowship awards (AL and LL)

(36) DERIVADOS APORFÍNICOS DE BOLDINA BLOQUEAN LOS HEMICANALES, PERO NO LOS CANALES DE UNIONES EN HENDIDURAS EN CÉLULAS HeLa TRANSFECTADAS CON CONEXINA 26, 32 Ó 43 (Boldine aporfinic derivatives block hemichannles but not gap junction channels in HeLa cells transfected with connexin26, 32 or 43) [a]**Marlene N. Arismendi**, [b,d]Helmuth A. Sánchez, [b,d]Kenji F. Shoji, [c]María P. Ocaranza, [a]Bruce K. Cassels, [b,d]Juan C. Sáez. [a]Departamento de Química, Universidad de Chile. [b]Departamento de Ciencias Fisiológicas y [c]Departamento de Cardiología, Pontificia Universidad Católica y [d]Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia. arismendi.macuer@gmail.com

Objetivos*:* Los hemicanales (HCs) y canales de unión en hendidura (CUH) formados por conexina26 y/o 32 son expresados en pocos tipos celulares, mientras los formados por conexina43 presentan una expresión ubicua. En este trabajo se estudió el efecto de boldina y de algunos derivados sobre canales y hemicanales de células HeLa transfectadas con diferentes conexinas.
Metodología*:* Se utilizó células HeLa transfectadas con conexina32, 26 ó 43. En condiciones basales, bajo inhibición metabólica (IM; iodoacetato + antimicina A) o ausencia de cationes divalentes en el medio extracelular, se evaluó el estado funcional de los CUH y de los HCs mediante la técnica de acoplamiento a amarillo de Lucifer y la captación de etidio, respectivamente.
Resultados: Boldina-HCl no afectó los CUH en condiciones control, ni previno ni revirtió el desacoplamiento celular inducido por IM. Sin embargo, boldina-HCl inhibió en forma reversible la captación de etidio inducida por IM o por ausencia de cationes divalentes en el medio extracelular. Resultados similares se obtuvieron con N-metil-laurotetanina, glaucina y predicentrina.
Conclusiones: Boldina y sus derivados actúan como bloqueadores de HCs y no de CUH formados por conexina26, 32 ó 43.

(37) ALDOSTERONA POTENCIA LA INMUNOGENICIDAD DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS, AUMENTANDO SU CAPACIDAD DE ACTIVAR CÉLULAS T (Aldosterone enhances dendritic cell immunogenicity, increasing their capacity to prime T cells) **Francisco Contreras[1],** Andrés Herrada[1], Natacha Marini[1], Flavio Carrión[3], Fernando Figueroa[3], Luis Michea[4] y Alexis M. Kalergis[1,2]. [1]Núcleo Milenio en Inmmunología e Inmunoterapia. Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile. [3]Facultad de Medicina, Universidad de los Andes. [4]Facultad de Medicina, Universidad de Chile. akalergis@bio.puc.cl

Objetivos. En base a la observación de que aldosterona podría estar implicada en procesos proinflamatorios, evaluamos el efecto de esta hormona en la activación de células T mediada por células dendríticas (DCs).
Metodología. Se obtuvieron DCs a partir de ratones C57BL/6 y células T de ratones transgénicos OT-I. La secreción de citoquinas por parte de DCs tratadas con aldosterona (10^{-7} M) se evaluó mediante ELISA. Adicionalmente, las DCs, pulsadas o no con Ovalbúmina, fueron tratadas con aldosterona, para posteriormente coincubar con células T. La activación de las células T se determinó mediante citometría de flujo y ELISA.
Resultados. Aldosterona tiene un efecto potenciador sobre la capacidad de las DCs de activar células T. Aunque aldosterona no induce la maduración de las DCs, se observa un incremento en la secreción de la citoquina proinflamatoria IL-6 y una disminución de la citoquina inhibitoria IL-10 en respuesta a aldosterona. Además, las DCs expresan el receptor de mineralocorticoides, que al ser inhibido con spironolactona previene el efecto de aldosterona. Finalmente, como control, no se observa efecto directo de la hormona sobre la activación de las células T.
Conclusiones. Estos resultados sugieren que el efecto proinflamatorio de aldosterona se debería a la potenciación en la activación de las células T mediado por DCs. Así, estos resultados evidencian una posible modulación de la respuesta inmune regulada por el eje Renina-Angiotensina-Aldosterona.
Financiamiento: Fondecyt 1070352, 1050979, INCO e ICM.

(38) PAPEL DE *ccr7* EN LA HEMATOPOIESIS DEL PEZ CEBRA (Role of *ccr7* in the zebrafish hematopoiesis) **Gallardo V.** (1), Villablanca E.J. (2) y Allende ML. (1). (1)CGC, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (2)Instituto Científico San Rafaelle, Milán, Italia.

Objetivos: El desarrollo de las células de la sangre dependen de vías de señalización complejas donde factores de trascripción, integrinas y quimioquinas juegan un papel esencial en el desarrollo del sistema hematopoiético. En mamíferos, diversos estudios han mostrado la importancia del receptor de quimioquinas CCR7 en orquestar este proceso. Hasta la fecha, poco es lo que se sabe sobre el papel de esta molécula en el desarrollo de este sistema en el pez cebra. El objetivo de este trabajo es entonces, caracterizar la expresión y la participación de *ccr7* en el proceso hematopoiético en el pez cebra.
Metodología: El patrón de expresión de *ccr7* fue determinado a través de ensayos de hibridación *in situ*. Los ensayos funcionales por su parte, se llevaron a cabo mediante experimentos de pérdida de función génica utilizando morfolinos antisentido.
Resultados: Identificamos genes de receptores de quimioquinas que se expresan en lugares donde ocurre hematopoiesis en el pez cebra. Específicamente, hemos observado que *ccr7* se expresa en la región DA-PCV y en el CHT, lugares donde ocurre la etapa definitiva de hematopoiesis. Además, hemos estudiado el papel de *ccr7* en el desarrollo del proceso hematopoiético, y hemos observado que la inhibición de ccr7 produce una disminución en los niveles de expresión del precursor de células T, *rag1*.
Conclusiones: Nuestros resultados identifican al receptor de quimioquinas *ccr7*, como un marcador temprano de la hematopoiesis definitiva en el pez cebra.
Financiamiento: FONDECYT 1070867, ICM P06-039-F

(39) CÉLULAS DENDRÍTICAS UTILIZADAS EN INMUNOTERAPIA CONTRA EL MELANOMA MALIGNO ACTIVAN CÉLULAS NATURAL KILLER (Dendritic cells used in immunotherapy against malignant melanoma are able to activate NK cells) **Mónica Kurte[1],** Claudia Durán[1], Paulina Toledo[1], Cristián Pereda[1], Benedict Chambers[2], Mercedes López[1] y Flavio Salazar-Onfray[1]. (1)Programa de Inmunología, ICBM, Universidad de Chile, Santiago, Chile. (2)Departamento de Medicina, Instituto Karolinska, Estocolmo, Suecia. mkurte@med.uchile.cl

Objetivo
Terapias inmunológicas basadas en células dendríticas (DCs) tienen como objetivo la activación de linfocitos T citotóxicos. Recientemente se ha demostrado que DCs y células "*Natural Killer*"(NK) interaccionan de manera recíproca. Planteamos que DCs cargadas con lisados tumorales (TAPCells) activarán células NK humanas**.**
Metodología: La activación de NK (CD3-CD56+), obtenidas de concentrados leucocitarios, se evaluó mediante la detección de CD69, perforina e IFN-γ por citometría de flujo. Ensayos de liberación de ^{51}Cr se utilizaron para evaluar la capacidad citotóxica de NK. Se utilizaron técnicas de imunohistoquímica/fluorescencia y citometría de flujo para visualizar la interacción NK-DC y detección de NK humanas en ratones SCID-humanizados
Resultados: NK de pacientes con melanoma vacunados con TAPCells aumentan en ~20% en la expresión de CD69, presentan una mayor expresión de perforina e IFN-γ. La interacción directa entre NK y TAPCells y la secreción de IFN-γ se visualizó por inmunofluorescencia. Se observó una mayor capacidad citotóxica de éstas NK contra K562. La detección de NK humanas en ratones SCID-humanizados se logró mediante citometría de flujo.
Conclusión: DCs utilizadas en inmunoterapia contra el melanoma maligno inducen la activación de células NK humanas. Pacientes vacunados con TAPCells mostraron una activación de células NK las que tendrían un rol en la respuesta antitumoral. La implementación de modelos quiméricos permitirá la evaluación *in vivo* de la interacción NK-DCs en modelos de melanoma humano.
FONDEF DO5I10366

(40) EFECTO DIABETOGÉNICO DE LA DROGA INMUNOSUPRESORA FK506 POR BLOQUEO DE LA SECRECIÓN DE INSULINA EN CÉLULAS PANCREÁTICAS (Diabetogenic effect of immunosuppresive drug FK506 due to the blockage of insulin secretion in pancreatic cells) **Rauch, M.C.**, Quezada, C., Salas, M., Cárcamo, J.G., Yánez, A.J., Slebe, J.C. y Claude, A. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. crauch@uach.cl (Patrocinio: A. Yáñez).

Objetivos: La inhibición de la expresión de IL-2 descrita para la droga inmunosupresora Tacrolimus (FK506), no explica los efectos secundarios del tratamiento inmunosupresor. Estos se explicarían por el efecto sobre la vía secretoria, descrito por nuestro laboratorio. En este contexto, el efecto diabetogénico se produciría por el bloqueo de la secreción de insulina en células beta pancreáticas.
Objetivos: Se utilizaron células Jurkat, las cuales secretan IL-2 y las células MIN 6, que corresponde a una línea celular derivada de páncreas, que secreta insulina. Las células fueron tratadas con FK506 y con brefeldina A (BFA), para luego proceder a los análisis de secreción por Western blot y por inmunofluorescencia.
Resultados: Al inhibir la secreción mediante BFA se observa el mismo efecto que con FK506, es decir, disminuye la cantidad de IL-2 detectada en el medio de cultivo y aumenta el contenido intracelular. En forma similar, se observa un aumento de insulina en las células MIN 6 tratadas con BFA y con FK506.
Conclusiones: Si bien la droga FK506 afecta la expresión de IL-2, también bloquea la vía secretoria, de esta citoquina en células Jurkat y de insulina en células MIN 6. Estos resultados permiten proponer un mecanismo responsable de la hiperglicemia observada posteriormente al tratamiento con drogas inmunosupresoras.
Financiamiento: Proyectos Bicentenario de Ciencia y Tecnología PBCT Nº 5, DID-UACh SB-2005-01 y FONDECYT 1030346.

(41) *Neisseria gonorrhoeae* INDUCE UN CAMBIO FENOTÍPICO EN CÉLULAS EPITELIALES POLARIZADAS (Phenotypic changes in epithelial cells by *Neisseria gonorrhoeae*) **Carolina Rodríguez-Tirado,** Daniel Valdés, Mónica Imarai, Kevin Maisey. Laboratorio de Inmunología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Objetivos: *Neisseria gonorrhoeae* (*Ngo*) es el agente etiológico de la enfermedad de transmisión sexual conocida como gonorrea. Mujeres infectadas con *Ngo* pueden desarrollar fibrosis en el oviducto, entre otras complicaciones crónicas, a través de un mecanismo desconocido. En el desarrollo de la fibrosis, células epiteliales participarían en la generación de células mesenquimáticas mediante un proceso denominado Transición Epitelio-Mesénquima (TEM). Así, nos propusimos determinar si *Ngo* induce un proceso de TEM en células epiteliales del tracto reproductor femenino**.**
Metodología: Células epiteliales endometriales fueron infectadas con *Ngo* por 24, 48, 72 y 96 hrs y se determinó la expresión y localización de E-cadherina, β-catenina, vimentina, fibronectina y TGF-β1 mediante RT-PCR, western blot e inmunofluorescencia.
Resultados: La infección modifica la localización de E-cadherina y β-catenina y una despolarización del citoesqueleto de Actina, mientras que su expresión no se modifica, lo que sugiere una pérdida de fenotipo epitelial. Por otro lado, fibronectina se induce en tiempos cortos de infección, localizándose a nivel basal en forma de fibras, para luego ser probablemente degradada en períodos más prolongados de infección. Estos resultados son muy similares a los observados cuando las mismas células epiteliales son tratadas con TGF-β1.
Conclusiones: Los cambios en la localización de marcadores epiteliales, así como la inducción de fibronectina, sugieren que en las células epiteliales endometriales infectadas con *Ngo*, se induce un proceso de TEM, en el que los resultados observados indicarían la formación de un fenotipo metaestable.

(42) IL-10 DISMINUYE LA EXPRESIÓN DE LIGANDOS NKG2D EN LA SUPERFICIE DE CÉLULAS DE MELANOMA (Il-10 downregulates melanoma cell surface expression of NKG2D ligands) **Serrano AE.,** Gatica-Andrades M, Menares-Castillo E., Figueroa-Amenábar C, Zúñiga R, López M., Salazar-Onfray. F Aguillón. JC, y Molina MC. Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. mcmolina10@hotmail.com (Patrocinio: J. Sierralta)

Objetivos: Las células Natural Killers (NK) son los componentes principales de la inmunidad innata antitumoral. NKG2D es uno de los receptores más importantes en la inducción de la citotoxicidad por parte de NK humanas. Los principales ligandos de NKG2D (NKG2DL) son la cadena relacionada al MHC clase I (MIC) y la proteína de unión a UL16 (ULBP) los cuales se expresan en células tumorales y estresadas. Nuestro objetivo es estudiar los mecanismos evasivos de la inmunovigilancia. Para ello, estudiamos, en células de melanoma, la expresión y ubicación de NKG2DL y el efecto de IL-10, citoquina presente en el ambiente tumoral, sobre estas moléculas**.**
Metodología: En líneas celulares de melanomas se analizaron la expresión de RNAm y proteico de NKG2DL, mediante RT–PCR semicuantitativo, inmunoprecipitación, citometría de flujo, inmunofluorescencia y microscopía confocal, en presencia y ausencia de IL10.
Resultados: Se observó la co-expresión de mRNA de MICA/B y ULBP, la presencia de MICA/B en vesículas intracitoplasmáticas que estarían siendo retenidas y, cuando son tratadas con IL-10, la disminución de la expresión de MICA en la superficie de las células.
Conclusiones: Nuestros resultados demuestran que MICA/B se retiene en el interior de las células e IL-10 disminuye la expresión en superficie de MICA, como un nuevo mecanismo de los tumorales involucrados en la evasión de la inmunovigilancia de las células NK.

(43) *Trypanosoma cruzi* INHIBE EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO (*Trypanosoma cruzi* calreticulin inhibits the classical complement pathway) **C. Valck,** V. Ferreira, M. Rodríguez, G. Ramírez, N. López, C. Ribeiro, W. Schwaeble, A. Ferreira. Facultad de Medicina, ICBM, Universidad de Chile. cevalck@gmail.com

Objetivo: Determinar el mecanismo molecular por el cual Calreticulina de *Trypanosoma cruzi* (TcCRT)inhibe la activación del complemento humano.
Metodología: Se utilizó ELISAs con C1, C1q, C1r y C1s. La activación de C1, en las distintas condiciones mostradas se determinó mediante ensayo de digestión de C4.
Resultados: TcCRT se una a C1q, pero no a C1, cuando éste ya se encuentra unido a IgG a través de sus cabezas globulares. Sin embargo, TcCRT no se une a C1 tratado con EDTA para disociar a C1r-C1s de C1q. Probablemente, la presencia y activación previa de las serinoproteasas pueden generar un cambio conformacional diferente del que ocurre cuando C1q se une a las IgGs. Parte del C1q del suero circula sin C1r-C1s. TcCRT interfiere en la formación del complejo C1 *in Vitro* y en la unión de C1r-C1s a C1q. TcCRT no desplaza a C1r-C1s, previamente unidas a C1q. Además, TcCRT inhibe la activación de C1 puro, en solución o inmovilizado a IgG.
Conclusiones: TcCRT presenta dos mecanismos de inhibición de C1. En el primero, TcCRT impide que las serino proteasas se unan a C1q, y en el segundo, actúa interfiriendo en la actividad enzimática de las serino proteasas C1r-C1s (sin desplazarlas de C1q).
Financiamiento : Proyecto Bicentenario de Anillos ACT 29. CONICYT

(44) LA EXPRESIÓN DEL GEN CaMKIV ES REGULADA POR LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN Wnt/β-CATENINA EN NEURONAS HIPOCAMPALES (Regulation of CaMKIV gene expression by the Wnt/β-catenin signaling pathway in hippocampal neurons) **Arrázola MS.,** Varela-Nallar L., Colombres M. e Inestrosa NC. Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Objetivos: La proteína CaMKIV ha sido involucrada en procesos de memoria, principalmente a través de la fosforilación de CREB. Mediante análisis *in silico* se predijo que el gen CaMKIV podría ser gen blanco de la vía Wnt/β-catenina. En base a esto nos propusimos determinar si su expresión es regulada por la vía Wnt en neuronas hipocampales**.**
Metodología: Cultivos primarios de neuronas hipocampales fueron tratados con medios condicionados *Wnt*3a y *Wnt*7a, y con LiCl 5mM. Los niveles de la proteína CaMKIV fueron analizados por western blot e inmunofluorescencia. La actividad del promotor fue analizada en células HEK293 transfectadas con un vector reportero de luciferasa bajo el control del promotor del gen CaMKIV.
Resultados: El tratamiento con *Wnt*3a y LiCl indujo la activación del promotor de CaMKIV. Además, se observó una inducción de los niveles de la proteína CaMKIV en neuronas tratadas con *Wnt*7a y *Wnt*3a por 12-16 h y con LiCl por 24 h. Como controles positivos se analizaron los niveles de β-catenina y ciclina D1.
Conclusiones: La inducción de la expresión de CaMKIV por la activación de la vía Wnt sumado al análisis *in sílico* sugiere que CaMKIV podría ser un gen blanco de esta vía. Actualmente estamos estudiando si la inducción de este gen podría ser importante para los mecanismos neuroprotectivos mediados por la vía Wnt/β-catenina.
Financiado por FONDAP N°13980001, MIFAB y una beca predoctoral CONICYT para MC.

(45) DESARROLLO DE INTERFERENCIA POR RNA PARA EL ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE MICRO RNAs EN EL DESARROLLO Y MANTENCIÓN DE LA DIFERENCIACIÓN NEURONAL. **Federico Andrés Berndt**, Lorena Santa María, René Vidal, Andrés Couve, Manuel Kukuljan. Facultad de Medicina, Universidad de Chile**.** kukuljan@neuro.med.uchile.cl

Objetivo: los microRNAs son secuencias cortas de RNA que relulan negativamente la expresión de múltiples mRNAs. La herramienta utilizada hasta ahora para el estudio del papel biológico de los microRNAs es la pérdida de función mediada por oligonuclótidos antisentido, de difícil administración in vivo. El objetivo de este estudio es probar que es posible inducir la pérdida de función de microRNAs mediante procedimientos utilizados para interferencia de mRNAs, incorporados en vectores usados in vivo. En particular interesa entender el papel de microRNAs en el desarrollo y mantención del fenotipo neuronal.
Metodología: diseño de secuencias de interferencia contra miR-124a, de expresión neural, determinación de la interferencia midiendo actividad luciferasa de un reportero que incluye la secuencia completa del precursor del miR-124a, en células HEK293. Transducción de neuronas hipocampales en cultivo con un vector lentiviral para expresión de RNA de interferencia; análisis morfológico.
Resultados: la expresión del shRNAs diseñados sobre la secuencia del pre-miR124a se asocia a una disminución significativa de la actividad de luciferasa asociada a la secuencia del pre-miR-124a en células HEK. La transducción de neuronas hipocampales con el vector que codifica la misma secuencia de interferencia se asocia a cambios significativos en la morfología celular, particularmente a la disminución del número de dendritas.
Conclusiones: es posible realizar pérdida de función de miRNAs mediante interferencia por shRNA. La función de miR-124a en neuronas hipocampales es necesaria para su correcta diferenciación morfológica.
ACT 47, ICM-P04-068F.

(46) LA INTERACCIÓN ENTRE MAP1B Y TTL REGULA LA TIROSINACIÓN DE LA ALPHA-TUBULINA EN NEURONAS (MAP1B interaction with TTL regulates the tyrosination of alpha-tubuline in neurons) **Erick Contreras-Vallejos**[1], Sebastián Rojas[1], Elias Utreras[1], Eva-Maria Jiménez-Mateos[2], Ricardo B. Maccioni[3], Jesús Avila[2] y Christian González-Billault[1]**.** (1)Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (2)Centro de Biologia Molecular Severo Ochoa, Madrid, España. (3)Laboratorio de Biologia Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. chrgonza@uchile.cl - erickcontreras@gmail.com

Objetivos: Las modificaciones post-traduccionales de la alfa-tubulina contribuyen a determinar las propiedades dinámicas de los microtúbulos. Debido a que las neuronas que carecen de MAP1B presentan un bajo contenido de alfa-tubulina tirosinada , decidimos analizar una posible interacción entre MAP1B y TTL, la enzima que incorpora el residuo de tirosina a la alfa-tubulina,
Metodología Para estudiar la interacción entre MAP1B y TTL se utilizaron extractos de cerebro de ratón E18, y se realizaron ensayos de *Pull-down* e inmunoprecipitación . Para estudiar las variaciones en los niveles de alfa-tubulina tirosinada se realizaron extractos de proteínas de ratones en E18 como de líneas celulares N2a y Cos7 transfectada con vectores que codifican para MAP1B y/o TTL.
Resultados: MAP1B es capaz de interactuar con TTL, no viéndose afectada esta interacción por la fosforilación de MAP1B. Los niveles de alfa-tubulina tirosinada se encuentran disminuidos en KO para MAP1B y aumentan al sobrexpresar TTL y MAP1B en líneas celulares. La interacción de MAP1B con la enzima es a traves de la cadena pesada de MAP1B. El efecto es independiente de un entrecruzamiento con los microtúbulos
Conclusiones: Los resultados anteriormente mencionados señalan que MAP1B es capaz regular la tirosinación de la alfa-tubulina, indicando que esta regulación puede ser importante en procesos como guía axonal y migración neuronal donde se requieren cambios rápidos en la estabilidad del citoesqueleto.
Financiacion Fondecyt 1060040

(47) LA EXPRESIÓN DE Runx1 ES MODULADA POR VÍA WNT EN CÉLULAS NEURONALES (Runx1 expression is modulated by Wnt pathway in neuronal cells) **Mery De La Fuente**[1], Ariana Bertin[1], Paulina Bahamonde[1], Maryory Montero[1], Felipe Núñez[1], Carlos Opazo[2], Giancarlo De Ferrari[1]. [1]Depto. Bioquímica y Biol. Molec., [2]Depto. Fisiología. U. de Concepción, Chile. gdeferrari@udec.cl

Objetivo: Los factores de trascripción Runx regulan el desarrollo y diferenciación de distintos tipos celulares. Runx1 se expresa en tejido hematopoyético y recientemente se describe su expresión en el sistema nervioso central (SNC). Dado que el homólogo Runx2 es regulado vía Wnt canónica mediante TCF/LEF durante osteogénesis, evaluamos si la expresión de Runx1 es modulada por Wnt en células neuronales.
Metodología: Examinamos la expresión diferencial de isoformas provenientes del uso alternativo de promotores (MAS y MRIPV) en cerebro de ratón y cultivos primarios de neuronas corticales de rata (E18) mediante RT-PCR. Además, neuronas corticales fueron tratadas con inductores de la vía Wnt. Finalmente, se clonó el promotor en un vector acoplado a gen reportero (luciferasa) para evaluar su actividad.
Resultados: En los tejidos examinados del cerebro de ratón (corteza, hipocampo, cerebelo) hemos encontrado expresión de ambas isoformas de Runx1, las cuales parecen no mostrar una expresión diferencial. En presencia de inductores de la vía (litio, valproato y medios condicionados con Wnt3a) observamos un aumento concentración-dependiente de la expresión del mensajero Runx1, el que correlaciona con la actividad del promotor.
Conclusiones: La existencia de sitios consenso TCF/LEF en el promotor, la expresión de isoformas de Runx1 en tejidos neuronales y el aumento en su expresión en neuronas corticales de rata inducidas, sugieren la participación de la vía Wnt en la regulación de la expresión del gen *Runx1*.
PBCT Anillo ACT-04

(48) EL RECEPTOR PARA NEUROTROFINAS, TrkB, PARTICIPA EN RESPUESTAS CELULARES DIFERENCIALES DE NEURONAS HIPOCAMPALES Y CORTICALES FRENTE A ESTIMULACIÓN CRÓNICA (The neurotrophin receptor TrkB participates in differential cellular responses in hippocampal and cortical neurons following chronic stimulation) **Rodrigo González**[1]**,** Andrés González[1], Soledad Sandoval[1], Marcelo Sepúlveda[1], Luis Michea[2], Ursula Wyneken[1]. [1]Lab. de Neurociencias, U. de los Andes, [2]ICBM, U.de Chile. neuroc@uandes.cl

El receptor para el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF), TrkB, está críticamente implicado en la epileptogénesis de las epilepsias del lóbulo temporal (ELT). TrkB activa mecanismos depolarizantes, aumentos de calcio intracelular y estimula el crecimiento dendrítico. En las ELT, se desarrolla un foco epiléptico en el hipocampo y regiones adyacentes que es secundario a una injuria cerebral, como un estatus epilepticus (SE o convulsión prolongada). Sin embargo, la neocorteza es más resistente al desarrollo de focos.
Objetivo: Estudiar la participación de TrkB en respuestas compensatorios después de SE en animales o estimulación crónica de neuronas corticales en cultivo.
Metodología: Inmunohistoquímica, Inmunocitoquímica, Inmunoprecipitaciones, Medición de calcio intracelular.
Resultados: Después de SE, TrkB disminuye en neuronas piramidales corticales (pero no hipocampales), lo que está asociado a retracción dendrítica. En inmunoprecipitados de corteza, pero no de hipocampo, TrkB está no fosforilado (inactivo). En cultivos primarios de neuronas hipocampales (12DIV), TrkB fosforilado (activado) se asocia a espinas dendríticas después de estimulación crónica con bicuculina, mientras que en cultivos corticales ocurre lo opuesto. Como reflejo del estado funcional de TrkB estamos evaluando los niveles de calcio dendríticos en respuesta a BDNF.
Conclusión: Mientras TrkB es pro-epileptogénico en neuronas hipocampales, nuestros resultados sugieren que este receptor participaría en respuestas compensatorias (anti-epileptogénicas) en neuronas corticales.
Finaciado por: AnilloACT09-2006(UW), BMBF(UW), Fondecyt1050690(LM)

(49) HID-1, UN NUEVO REGULADOR EN NEUROSECRECIÓN (HID-1, a novel regulator of neurosecretory signaling) **Rosana Mesa**, Shuo Luo, and Michael L. Nonet. Department of Anatomy and Neurobiology, Washington University School of Medicine Saint Louis, MO. USA. (Patrocinio: N.C. Inestrosa)

Objective: Investigate the role of the novel protein HID-1 in the nervous system.
Methods: Invertebrate and vertebrate HID-1 were studied through the genetic model of *C. elegans* and PC12 cells respectively.
Results: We demonstrate that HID-1 functions in the nervous system to regulate neuromuscular signaling and in the intestine to regulate the defecation motor program in *C.elegans*. We further show that a conserved N-terminal myristoylated motif of both invertebrate and vertebrate HID-1 is essential for its membrane association in nematode and PC12 cell systems. Neuronal HID-1::GFP behaves as a synaptic protein and accumulates in UNC-13 and UNC-31 mutants in *C. elegans* supporting the idea that worm HID-1 associates with exocytic vesicles. Consistent with this, mammalian HID-1::GFP appears to reside in the secretory pathway. Finally, genetic studies implicate HID-1 in the control of neuropeptide signaling.
Conclusions: Our findings indicate that HID-1 is a novel regulator of neurosecretory signaling.

(50) INHIBICIÓN AGUDA DEL TRANSPORTE NEURONAL DE LA GLUCOSA: MECANISMOS PRE-SINÁPTICOS Y POST-SINÁPTICOS (Acute inhibition of neuronal glucose transport: pre- and post-synaptic mechanisms) **Carolina Oyarzún**[1,2], Hans Moldenhauer[1,2], Omar H. Porras[1], Timothy Ryan[3], L. Felipe Barros[1]. [1]Centro de Estudios Científicos, Valdivia, [2]Universidad Austral de Chile, Valdivia, y [3]Cornell University, Nueva Cork, USA. coyarzun@cecs.cl

Objetivos: Hemos observado previamente que el glutamato induce una inhibición aguda del transporte de glucosa en neuronas en cultivo, dependiente de la activación del receptor tipo AMPA. En el presente trabajo nos propusimos evaluar la contribución relativa de los fenómenos pre- y post-sinápticos respecto a la inhibición del transporte.
Objetivos: El transporte de glucosa fue medido por microscopía confocal usando el trazador fluorescente 6-NBDG. En ensayos de captación de célula única se evaluó el efecto de la estimulación eléctrica de campo sobre la tasa de captación del azúcar en condiciones de inhibición postsináptica con CNQX. En otra serie de experimentos se evaluó farmacológicamente la posible participación de los receptores tipo NMDA.
Resultados: La estimulación eléctrica de campo produjo aumentos en la concentración intracelular de calcio y sodio, reproduciendo la respuesta generada por el potencial de acción, sin embargo, no se observaron cambios significativos sobre la tasa de captación de 6-NBDG. La inhibición de la captación por glutamato fue imitada por NMDA, lo cual no ocurrió en presencia del bloqueador MK-801. Esto sugiere la participación de receptores tipo NMDA.
Conclusiones: Los resultados indican que la inhibición del transporte de glucosa durante la actividad neuronal es un fenómeno postsináptico y no presináptico. Estos resultados serán discutidos en relación a las demandas energéticas de ambos dominios.

(51) EL LIGANDO WNT-7a INDUCE CAMBIOS TRANSCRIPCIONALES EN NEURONAS DE HIPOCAMPO DE RATA TRATADAS CON EL PEPTIDO Aβ. (Wnt-7a ligand induces transcriptional changes in rat hippocampal neurons treated with Aβ peptide). **Leonardo Pávez**[1], Marcela Colombres[2], Juan Godoy[2], Verónica Cambiazo[1], Eliseo O. Campos[2], Mauricio González[1] y Nibaldo C. Inestrosa[2]. [1]Lab. de Bioinformática y Expresión Génica, Inst. de Nutrición y Tecnol. de los Alimentos (INTA), U. de Chile y [2]Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Inst. Milenio MIFAB y Fac. de Cs. Biológicas, P. U. Católica de Chile.

Objetivos Se ha sugerido que la activación de la vía Wnt previene la neurotoxicidad inducida por el péptido Aβ. En este contexto, hemos iniciado una búsqueda de los genes involucrados en el mecanismo de neuroprotección dependiente de Wnt.
Metodología Microarrays sembrados con oligonucleótidos (22.000 genes de rata) fueron hibridados con RNA de cultivos neuronales expuestos a: 1) péptido Aβ v/s medio condicionado Wnt-7a y 2) péptido Aβ v/s medio condicionado pcDNA; y expuestos al péptido Aβ. Se recuperó un ~55% de los puntos de siembra con una señal >2 SD del ruido asociado, estos datos fueron normalizados con *Lowess* y analizados mediante el algoritmo de *SAM* (tasa de falsos positivos <5%).
Resultados Nuestros resultados indican que en las células tratadas con Aβ, 90 genes aumentan su expresión y 62 la disminuyen en respuesta a la presencia de Wnt-7a.
Conclusiones: Se discutirá la participación de estos genes en vías metabólicas y su asociación a redes de regulación transcripcional con el propósito de identificar nuevos blancos de intervención terapéutica para la enfermedad de Alzheimer.
Financiado por FONDAP Nº 13980001, FONDEF 1071083, MIFAB y Beca pre-doctoral CONICYT para MC.

(52) ACTIVACIÓN DE PPARγ INDUCE UN AUMENTO EN LA SOBREVIDA DE NEURONAS DEL GANGLIO DE LA RAÍZ DORSAL DE RATA ADULTA (PPARγ activation induces increased in survival of adult rat dorsal root ganglia neurons) **Vega, D.** y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) e Instituto Milenio MIFAB. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. mbronfman@bio.puc.cl

Objetivo Los receptores activados por proliferadotes peroxisomales (PPARs) son factores de transcripción de la familia de receptores nucleares activados por ligando, involucrados en variadas patologías que incluyen resistencia a insulina, diabetes y enfermedades neurodegenerativas, entre otras. Anteriormente, hemos demostrado que la activación de la vía de sobrevida neuronal dependiente de NGF, activa transcripcionalmente a PPARγ. Por otra parte rosiglitazona (RGZ), un activador de PPARγ, protege a las neuronas del ganglio de la raíz dorsal (DRG) de ratas neonatas ante el daño oxidativo. Dado que las DRGs de ratas adultas, a diferencia de su contraparte embrionaria y neonatal, no dependen de NGF para su sobrevida, nuestro objetivo es determinar la presencia de PPARγ en estas neuronas sensoriales y estudiar el posible papel de este receptor en sobrevida neuronal.
Objetivos: Cultivos de neuronas extraídas del ganglio de la raíz dorsal de ratas adultas, fueron utilizados en ensayos bioquímicos e inmunofluorescencia. Cultivos primarios del mismo tipo fueron tratados con el agonista RGZ.
Resultados: PPARγ se encuentra presente en neuronas sensoriales DRG de rata adulta. La incubación con RGZ, indujo un aumento en la sobrevida *in vitro*.
Conclusiones: Nuestros resultados indican que la activación de PPARγ en neuronas DRG de rata adulta media un aumento en la sobrevida *in vitro*, sugiriendo una posible relación entre este receptor nuclear y la independencia hacia NGF, que desarrollan estas neuronas sensoriales adultas.
Financiamiento Proyecto FONDAP 1398001 y Proyecto MIFAB P04-071F

(53) PAPEL DE REST/NRSF EN EL DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBRAL. **José Cánovas,** Patricio Fuentes, Manuel Kukuljan. Facultad de Medicina, Universidad de Chile kukuljan@neuro.med.uchile.cl

Objetivo: el represor transcripcional REST/NRSF y sus proteínas asociadas han sido implicados como reguladores centrales de la diferenciación neuronal, a partir de evidencias in vitro. La letalidad temprana asociada a la deleción del gen que lo codifica ha impedido establecer su papel in vivo. Este estudio tiene como objetivo probar la hipótesis de que REST/NRSF y sus complejos asociados son necesarios para la diferenciación neuronal normal a partir de progenitores en la corteza en mamíferos. La aproximación experimental general considera la inducción de pérdida de función de REST/NRSF y complejos asociados en progenitores neurales, en el contexto del cerebro normal en desarrollo.
Métodos: electroporación in utero de la corteza de ratones en E15 de plásmidos que codifican GFP y una forma dominante negativa de REST u horquillas cortas de RNA dirigido contra los transcritos de interés. Se permite el desarrollo in utero hasta E18, examinándose entonces secciones de los cerebros fijados mediante microscopía confocal.
Resultados: la pérdida de función de REST/NRSF se asocia a defectos significativos de la migración de los progenitores neurales desde la región subventricular.
Conclusiones: la función de REST/NRSF es necesaria para la diferenciación normal y desarrollo de la corteza cerebral in vivo.
ACT 47, ICM-P04-068F.

(54) PLEGAMIENTO *IN VIVO* DE α-TUBULINA RECOMBINANTE: EFECTO DE LA MUTACIÓN E254Q EN EL DESARROLLO TEMPRANO DEL PEZ CEBRA (*In vivo* folding of a recombinant □-tubulin: effect of the site-directed mutation E254Q on the early Zebrafish development) **César Díaz[1],** Cristian Undurraga[2], Rocío León[1], Marcela Muñoz[1], Miguel Allende[2], Octavio Monasterio[1]. [1]BEM, [2]CGC, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. armisael_hsg@hotmail.com

Objetivos: Para realizar sus funciones, los microtúbulos, cambian entre fases de crecimiento y acortamiento, proceso conocido como inestabilidad dinámica, que depende de la hidrólisis de GTP. En este trabajo se utilizó la maquinaria de plegamiento del ovocito del pez cebra como modelo para estudiar la participación del glutamato 254 de □-tubulina recombinante, que se postula activa la hidrólisis de GTP. El uso de una proteína recombinante para estudios estructurales y funcionales no ha sido posible, pues □- y □-tubulina se expresan como cuerpos de inclusión y no polimerizan *in vitro***.**
Metodología: Se purificó □-tubulina de tipo silvestre y la mutante E254Q desde cuerpos de inclusión bacterianos. Las proteínas fueron modificadas covalentemente con TAMRA y microinyectadas en ovocitos del pez cebra. Se cuantificó la tasa de mortalidad y se observaron los embriones por microscopia de epifluorescencia a distintos estadíos de desarrollo.
Resultados: La proteína recombinante silvestre formó filamentos y no afectó el normal desarrollo del ovocito. La proteína recombinante mutada afectó proporcionalmente a la concentración, el normal desarrollo del ovocito.
Conclusiones: La □-tubulina recombinante se pliega normalmente en ovocitos del pez cebra y forma filamentos funcionales. La mutación E254Q afecta su desarrollo. Esto proporciona una herramienta para el estudio de otros residuos implicados en la regulación de la dinámica de los microtúbulos.

(55) PAPEL DE Hif-1α EN LA PROLIFERACIÓN CELULAR DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PEZ CEBRA (Role of Hif-1α in cellular proliferation during embryo development in zebrafish) **Carlos S. Henríquez[2],** Elías H. Barriga[3] y Ariel E. Reyes[1]. [1]Facultad de Ciencias de la Salud, U. Diego Portales. [2]Facultad de Química y Biología, U.de Santiago de Chile. [3]Facultad de Ciencias, U. Austral de Chile. ariel.reyes@udp.cl

Objetivos: El factor inducible por hipoxia-1α (HIF-1α) regula la expresión de genes en respuesta a baja en la tensión de oxígeno (hipoxia). Ratones *knock-out* de *HIF-1α* muestran defectos letales durante el desarrollo embrionario. En nuestro laboratorio estudiaremos el efecto de la falta de función y sobre-expresión de *hif-1α* en la formación del sistema nervioso central de pez cebra, y su efecto proliferación celular de poblaciones neuronales definidas.
Metodología: Embriones de pez cebra microinyectados con óligo-antisentido (morpholino) contra *hif-1α* y sometidos a hipoxia (3%), se fijan en estadíos de 10, 18 y 24 horas post-fertilización. Posteriormente se analizan para estudiar la proliferación celular, por incorporación de Br-dU, y muerte celular por apoptosis.
Resultados: Los embriones inyectados con morpholino (morfantes) presentan reducción en el número de células en la zona lateral-anterior y dorsal-posterior del embrión, comparado con embriones microinyectados control. En la zona media del embrión, sin embargo, los embriones morfantes no presentan reducción significativa en el número celular, comparado con los respectivos controles. El análisis de apoptosis en embiones morfantes no parece estar significativamente alterada.
Conclusiones: La falta de función del factor de transcripción *hif-1α* inhibe la proliferación celular en células neuronales del sistema nervioso, afectando poblaciones celulares discretas, sugiriendo que este factor es necesario en su formación.

(56) CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y RELACIONES FILOGENÉTICAS DE LA PROTEÍNA PATCHED-RELATED DE *D. melanogaster* (Molecular characterization and phylogenetic relationships of Patched-related protein from *D. melanogaster*) **Freddy Ibáñez,** Carmen Bolatto, Patricia Hanna, Alejandro Zúñiga, Verónica Cambiazo. Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica INTA-Universidad de Chile & Center for Genomics of the Cell (CGC).

Objetivos: La topología transmembrana, incluyendo un dominio conservado *Sterol-Sensing Domain* (SSD), es semejante entre las proteínas Patched y Dispatched y una nueva proteína de *Drosophila*, Patched-related (Ptr). Como primera etapa en la caracterización de Ptr, determinamos la expresión espacio-temporal de su transcrito, su localización subcelular en embriones de *Drosophila* y su relación filogenética con las otras proteínas-SSD**.**
Metodología: Análisis de expresión del transcrito *ptr* mediante QPCR e hibridaciones *in situ*. Generación de un anticuerpo policlonal anti-Ptr. Detección de Ptr, mediante Western blots, en extractos enriquecidos en proteínas periféricas o integrales de membrana. Análisis de distribución espacial mediante imunofluorescencias en embriones completos. Análisis de parsimonia con todas las proteínas-SSD disponibles.
Resultados: El gen *ptr* es diferencialmente expresado durante la embriogénesis de *Drosophila*. En embriones de estado 5, Ptr se encuentra enriquecida en la región apical y en los tabiques membranosos de las células en formación. Consistentemente, los análisis bioquímicos señalan que Ptr sería una proteína integral de membrana. Los análisis filogenéticos resuelven tres diferentes clados de proteínas-SSD y agrupan a Ptr de *D. melanogaster* con Ptrs de otras especies de insectos.
Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que Ptr participaría en el tráfico de vesículas y/o fusión de membranas durante la celularización de *Drosophila* e indican que pertenece a una nueva clase proteínas-SSD de insectos. Para examinar la función de Ptr estamos generando líneas transformantes con pérdida de función.
Fondecyt 1050235

(57) EFFECT OF THE ENVIRONMENT IN THE DEVELOPMENT OF THE OLFACTORY SENSORY NEURONS IN THE ZEBRAFISH (Efecto del medio ambiente en el desarrollo de las neuronas sensoriales olfatorias de pez cebra) **Wilson Mena,** Juanita Astudillo, Francisco Araya, and Kathleen Whitlock. Centro de Neurociencia de Valparaíso (CNV), Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.

Objetives The olfactory sensory neurons (OSNs) arise in the peripherally located olfactory placode and their axons grow into the central nervous system CNS. Odor signals are transduced through olfactory receptors (ORs) located in the dendrites of OSNs. We will investigate the possible influence of the early exposure to odorants on the expression of ORs and on the axonal pathfinding in the CNS.
Methodology: Because all the ORs are not expressed at the same time during the development of the zebrafish, we will use *in situ* hybridization to detect the mRNA of the ORs that are expressed early in the development. Furthermore, we will use transgenic line of zebrafish that expressing fluorescent markers in axons of OSNs.
Results We have shown that, zebrafish form and retain olfactory memories of an artificial odorant, phenylethyl alcohol (PEA), experienced as juveniles. Exposure to PEA results in up-regulation of the transcription factor otx2. This expression is maintained in the adult and is manifest as an increase in the number of neuronal precursors cells olfactory epithelium. Furthermore, we have shown that Immediate Early Genes (IEGs) like *c-fos* are expressed in the developing olfactory epithelia of zebrafish embryos in response to odorants.
Conclusions: We will test whether early exposure to an odor causes the remodeling of the axonal projections towards glomerulus generating a change in the glomerular map of odor. Furthermore, we predict that changes observed will be correlated with an effect in the behavior of the odor-exposed fish.

(58) FUNCIÓN DE DLGS97/SAP97 EN EL CEREBRO DE *Drosophila* (DLGS97/SAP97 function in the *Drosophila* brain) **Carlos Oliva,** Valeria Albornoz y Jimena Sierralta. ICBM, F. De Medicina, Universidad de Chile y CENI. coliva@med.uchile.cl

Objetivos: Las proteínas productos del gen *dlg* de *Drosophila* pertenecen a la familia MAGUK de proteínas andamio, y son importantes en el desarrollo y mantenimiento de uniones intercelulares incluidas las sinapsis. Los principales productos de *dlg* son DLGA y DLGS97 homólogas a las proteínas sinápticas de vertebrados PSD95 y SAP97. Mutantes nulos para esta proteína sobreviven presentando problemas conductuales como defectos de fototactismo, cortejo y actividad circadiana. Para determinar si estos defectos se correlacionan con defectos morfológicos estudiamos la expresión de DLGS97 en cerebros de cepas silvestres y mutantes para DLGS97.
Métodos. Se realizó inmunofluorescencia en cerebros de tipo silvestre y mutantes marcados con anticuerpos anti-ELAV, anti-FASII, anti-chaoptin, anti-bruchpilot o anti CD8-GFP (en el caso del circuito atonal) analizándose por microscopía confocal.
Resultados: DLGS97 se expresa en la mayor parte de las neuronas así como en las neuropilas, especialmente en los mushroom bodies, lóbulos antenales y lóbulos ópticos. En mutantes, no encontramos defectos morfológicos gruesos en el SNC con marcadores que nos permiten evaluar, número y ubicación de las neuronas, principales neuropilas y tractos y tamaño del cerebro. El análisis del circuito atonal que posee solo unas pocas neuronas nos permitió determinar defectos en la conectividad del lóbulo óptico entre individuos normales y mutantes (promedio de 8,5 $\pm$ 1,1 proyecciones vs 6,1 $\pm$ 2,1 en mutantes, $p< 0,01$).
Conclusiones: La ausencia de DLGS97 no produce defectos en estructuras generales del SNC, pero resulta en defectos finos de conectividad neuronal que podrían ser, en parte, responsables del fenotipo conductual observado.
Financiado por ICM-PO4-068-F y ACT-47

(59) Sox 2 CONTROLA EL ESTADO DE DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS DEL PRIMORDIO DE LA LÍNEA LATERAL DE PEZ CEBRA (Sox 2 controls the state of differentiation of zebrafish lateral line primordium) **Pablo Sandoval**, Cristian Undurraga, Pedro Hernández y Miguel Allende, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, CGC.

Objetivo: El objetivo es evaluar la participación de sox2 en los procesos de diferenciación celular en la formación de la línea lateral de pez cebra.
Metodología: Embriones de pez cebra de estadio de 1 célula se inyectaron con 5nl de morfolino de sox2 1 □M. Mediante el uso de líneas trangénicas que expresan GFP en el primordio y neuromastos se puede evaluar la formación de la línea lateral. Para evaluar estos embriones se fijan a 29 hpf con PFA 4% y se realiza hibridación la *in-situ* para los marcadores correspondientes.
Resultados: La pérdida de función de sox2, causa un desarrollo anormal de este sistema sensorial, encontrándose como fenotipo morfante una deposición atrasada de los neuromastos. Al evaluar marcadores de diferenciación de las células que componen el primordio de la línea lateral encontramos que los embriones morfantes de sox 2 presentan anomalías en la expresión de genes como ath1, delta-B y noth3; los cuales han sido descritos en la diferenciación de las células del primordio que darán lugar a los neuromastos.
Conclusiones: Por lo tanto sox2 debe estar controlando genes de diferenciación de las células del primordio para un normal depósito y función de la línea lateral.

(60) CNBP ES ESENCIAL PARA EL DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS CRANEOFACIALES EN EL PEZ CEBRA (CNBP is required for craniofacial skeleton development in zebrafish) **Andrea Weiner,** Miguel Allende, Thomas Becker y Nora Calcaterra. Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Argentina; CGC, Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

Objectives: Striking conservation in various organisms suggests that Cellular Nucleic acid Binding Protein (CNBP) plays a fundamental biological role across different species. Recently, it was reported that CNBP is required for forebrain formation during chick and mouse embryogenesis. In this study, we have used the zebrafish model system to expand the basic understanding of CNBP activity during vertebrate head development.
Methodology: The *in vivo* effect of CNBP depletion was examined by using antisense morpholino oligonucleotide knock-down assays. The morphant phenotype was characterized by *in situ* hybridization and cell proliferation/apoptosis assays during embryonic development.
Results: We show that zebrafish *cnbp* is expressed in a similar fashion as has been observed in early chick and mouse embryos. It was noticed that CNBP depletion causes forebrain truncation while trunk development appears normal. A substantial reduction in cell proliferation and an increase in cell death were observed in the anterior regions of *cnbp* morphant embryos. *In situ* hybridization assays show that CNBP depletion does not affect CNS patterning while it does cause neural crest derivative depletion.
Conclusions: Our data suggest an essential role for CNBP in mediating neural crest expansion by controlling proliferation and cell survival rather than via a cell fate switch during rostral head development. This possible role of CNBP may not only explain zebrafish craniofacial anomalies but also those ones reported for mice and chicken and, moreover, demonstrate that CNBP plays an essential and conserved role during vertebrate head development.

(61) EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE MOLÉCULAS CON POTENCIAL ACTIVIDAD PARA EL TRATAMIENTO DE LAS CATARATAS (Biological evaluation of potentially bioactive agents for the treatment of cataracts) **Patricio Huenchuñir G.**[1], Eduardo Silva S[2]., Ana María Edwards M.[2], Tomás Pérez-Acle[3], María Inés Becker C.[4], Lorena Cantuarias B.[1], Freddy Rivera M.[1], Francisco Vargas B.[2], Patricio Flores M.[2], Carlos F. Lagos[1,3] y Denis Fuentealba P.[2 1]Laboratorio de Química Médica, Departamento de Farmacia, Facultad de Química. [2]Laboratorio de Química Biológica, Facultad de Química. [3]Centro de Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. [4]Biosonda S.A. phuenchu@uc.cl (Patrocinio: R. Moreno)

Objetivo: Evaluar el comportamiento de células epiteliales de lente humano inmortalizadas, en presencia de inhibidores de calpaína II, como estrategia para el tratamiento de cataratas.
Metodología: Los estudios se realizaron en células epiteliales de lente humano inmortalizadas (HLE-B3), sometidas a irradiación UVA-visible en una atmósfera al 5 % de oxígeno, simulando las condiciones fisiológicas del lente, en presencia y ausencia de nuevos inhibidores de calpaína II sintetizadas por nuestro grupo.
Resultados: Se observan cambios en los patrones electroforéticos del contenido intracelular de proteínas de lente, disminución de la actividad proteasomal y cambios en la actividad enzimática de metionina sulfoxirreductasa, encargada de revertir el proceso oxidativo del aminoácido metionina. A su vez, las moléculas inhibidoras de calpaína II, muestran interesantes actividades protectora frente a los cambios inducidos por la radiación UVA visible.
Conclusiones: Los nuevas inhibidores de calpaína II sintetizados, previene el estrés oxidativo inducido por radiación UVA visible, sugiriendo su potencial uso como agentes anticataratas.
Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1050965, Fundación Ciencia para la Vida.

(62) GENERACIÓN DE UN RATÓN GENÉTICAMENTE MODIFICADO PARA EL ESTUDIO DEL METABOLISMO NEURONAL DE GLUCOSA (Generation of a genetically modified mouse for the study of glucose metabolism in neurons) **Valeria Larenas**[1,2], Juan Young[1], l. Felipe Barros[1]. [1]Centro de Estudios Científicos y [2]Universidad Austral de Chile. valeria@cecs.cl

Objetivos: La actividad neuronal produce grandes cambios en el metabolismo energético cerebral, los cuales pueden ser rastreados mediante PET en las distintas zonas. Con el propósito de explorar los fenómenos celulares asociados a estos cambios, nos hemos propuesto medir la concentración neuronal de glucosa *in vivo*.
Metodología: Generamos en nuestro laboratorio un vector plasmidial que contiene el promotor neuronal-específico CAMKII, seguido de la secuencia que codifica para el nanosensor FLIPglu600µ–Δ11 y de una señal para poliadenilación. Habiendo comprobado previamente la expresión funcional del sensor en neuronas de cultivo primario, el transgen fue microinyectado en cigotos de ratón, obteniendo dos líneas transgénicas.
Resultados: El análisis por inmunofluorescencia indirecta de rebanadas de cerebro demostró la expresión del sensor en ambas líneas. Dicha señal reveló un patrón de expresión característico de este promotor, correspondiendo al giro dentado del hipocampo y parte de la corteza parietal. No se detectó expresión aparente en astrocitos.
Conclusiones: Se ha generado un ratón que expresa un nanosensor FRET de glucosa en neuronas cerebrales. Actualmente se están obteniendo homocigotos para aumentar el nivel de expresión a niveles compatibles con su detección en rebanadas agudas e *in vivo*.

(63) LA FOSFATASA DE PROTEÍNA 1 (PP1) PARTICIPA EN LA ADHESIÓN Y PROLIFERACIÓN DE *Trichomonas vaginalis* (Protein phosphatase 1 (PP1) participates in cell attachment and proliferation of *Trichomonas vaginalis*) **Christian Muñoz**[1], Mauricio Pérez[1], Carlos Cisternas[1], Luis Osorio.[1], Jorge Araya[1], Hernán Sagua[1], Renato Mortara.[2], Franco da Silveira J.F[2], Jorge González[1]. [1]Unidad de Parasitología Molecular U.de Antofagasta, Chile. [2]Departamento de Microbiología, Inmunología y Parasitología, U. Federal de São Paulo- Brasil. jgonzalez@uantof.cl

Trichomonas vaginalis, es un protozoo flagelado que infecta el tracto urogenital femenino y masculino, reportándose 170 millones de nuevos casos cada año.
Objetivo: Definir el papel de PP1 en adhesión y proliferación de *T.vaginalis*.
Metodología: Se estudió el efecto de inhibidores de quinasas y fosfatasas en la proliferación y adhesión de *T.vaginalis*. La estructura del citoesqueleto fue estudiada usando taxol marcado con Oregon Green y el gen de PP1 fue clonado mediante PCR y caracterizado.
Resultados: A concentraciones de 31,2 nM, caliculina A, inhibió la proliferación (60%) y la adhesión de *T.vaginalis* a células HeLa (100%). Estudios de microscopía de fluorescencia usando taxol-Oregon Green mostraron la despolimerización de microtúbulos en los parásitos tratados con caliculina A. Mediante PCR, utilizando partidores universales para PP1, se amplificó y clonó un gen de 984 pb que correspondió a la secuencia completa de PP1 de *T. vaginalis* (TvPP1). TvPP1 (327 aminoácidos), mostró una homología a nivel de aminoácidos de 62 % con la PP1 de *Medicago sativa*, *Dictyostelium discoideum* y *Saccharomyces cerevisiae*., mientras que con *Homo sapiens* la homología fue de 52%.
Conclusión: Estos antecedentes sugieren en su conjunto el papel de PP1 en adhesión y proliferación celular de *T.vaginalis* **y** permiten proponer a TvPP1 como potencial blanco quimioterapéutico.
Financiamiento**:** Fundación Andes C 13955/17

(64) CONTROL EPIGENÉTICO DE LA EXPRESIÓN DE GENES RIBOSOMALES DURANTE LA ACLIMATIZACIÓN ESTACIONAL DEL PEZ *Cyprinus carpio*: LA HISTONA VARIANTE H2A.Z (Epigenetic control of the ribosomal gene expression during seasonal acclimatization of the *Cyprinus carpio* fish: the histone variant H2A.Z) **Mauricio Reyes**, Claudia Riquelme, Miguel Ponce, Alfredo Molina, María Inés Vera, Marco Álvarez. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello. malvarez@unab.cl

Objetivos: Previamente, hemos demostrado que los mecanismos epigenéticos juegan un rol fundamental en la adaptación estacional del pez *C. carpio*, en particular las variantes de la histona H2A. Nuestro objetivo es relacionar y determinar la función que cumple la variante H2A.Z en la regulación de la biogénesis ribosomal asociada al proceso de aclimatización**.**
Metodología: Desde hepatocitos de carpas aclimatizadas estacionalmente se aislaron fracciones nucleares por centrifugación diferencial. Luego, estas se utilizaron para realizar experiencias de *Western blot* e inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). Adicionalmente, se realizaron estudios de inmunofluorescencia (IF) en tejido hepático. Finalmente, aislamos RNA total de hepatocitos para la obtención del cDNA de H2A.Z de carpa y evaluamos su expresión por PCR Tiempo-Real.
Resultados: H2A.Z de carpa presenta un alto porcentaje de identidad con otras especies (>95%). Los ensayos de ChIP vinculan H2A.Z y la expresión de los genes ribosomales mediante el enriquecimiento de la variante sobre su región promotora. Asimismo, ensayos de *Western blot* e IF demuestran que H2A.Z es mayoritariamente expresada durante la estación estival.
Conclusiones: Nuestros resultados indican que H2A.Z es regulada estacionalmente y su función se asocia a la regulación de la expresión los genes ribosomales. Estos hallazgos confirman un rol fundamental de los factores epigenéticos dentro de los mecanismos moleculares involucrados en la adaptación estacional del pez *C. carpio*.

(65) ESTUDIO MOLECULAR DE LA RESPUESTA GRAVITRÓPICA EN CONÍFERA (Molecular study of the gravitropic response in conifer)
Herrera, R[1]., Plomion, C[2]., Ramos, PC[1]., **Valenzuela, C**[1]. [1]IBVB, Universidad de Talca, Chile & [2]INRA, Equipe de Génetique et Amieloration des Arbres Forestiers, Pierroton, France. raherre@utalca.cl

Objetivos: Se estudió la expresión de genes en células de xilema de plántulas expuestas a crecimiento con inclinación. Esto permitirá identificar los genes involucrados en la respuesta y establecer el posible mecanismo molecular inducido durante la pérdida de verticalidad del fuste durante el crecimiento y la generación de madera de compresión**.**
Metodología: Plántulas de pino marítimo de 1 año fueron sometidas a crecimiento inclinado. Se colectó muestras a 2, 10 y 24 horas de tratamiento, manteniendo 25 plantas como control. Se extrajo RNA, construyéndose bibliotecas substractivas (SSH), las cuales fueron analizadas por secuenciación y clasificadas de acuerdo a la asignación de función mediante BLAST.
Resultados: Se observó una rápida respuesta inicial a la inclinación, cuyo mayor efecto fue a 45°. Se generaron 3 bibliotecas de SSH, conteniendo un total de 2400 fragmentos. Se estimó una redundancia promedio de 40% para las bibliotecas y fragmentos de tamaño entre 1500 y 300 pb. El análisis de BLAST muestra una expresión diferencial de genes en respuesta al estímulo gravitrópico, correspondiendo a genes de transporte, estructura de pared celular, transducción de señales, factores de transcripción y metabolismo.
Conclusiones: Se observa que las plántulas presentan una expresión diferencial de genes en respuesta al estímulo gravitrópico. Esta respuesta puede ser dividida en respuesta temprana y tardía, de acuerdo al patrón de expresión y comportamiento fenotípico. Se espera validar estos resultados por ensayos de PCR en tiempo real para determinar el nivel de expresión diferencial en los distintos tejidos.
Financiamiento: Proyecto Alfa-UE, Fondecyt 1071026.

Paneles II

(66) BRADICININA 1-5 (BK1-5): ¿UN PRODUCTO DE DEGRADACIÓN INACTIVO O UNA NUEVA CININA? (BK1-5: An inactive product of degradation or a new kinin?) **Astroza A**, Matus CE, Ehrenfeld P, Pavicic F, Figueroa CD. Inst. de Anatomía, Histolog. y Patología, U. Austral de Chile, Valdivia. aastroza@uach.cl

Objetivos*:* El fragmento BK1-5 es el producto de degradación de bradicinina (BK) más estable generado *in vivo* ($t_{1/2}$ 86 min) comparado con BK y Lis-Des[Arg^9]BK (LDBK, $t_{1/2}$ 16 seg). Se evaluó la actividad biológica de BK1-5 y su posible interacción con receptores B_1 y B_2 de cininas**.**
Metodología: Se investigó la capacidad de BK1-5 para provocar: *i)* aumento de la permeabilidad vascular en ratones por el método de Miles, *ii)* proliferación celular utilizando un ELISA que mide incorporación de BrdU, *iii)* fosforilación de MAPK ERK1/2 en células 3T3. La interacción de BK1-5 con receptores B_1 y B_2 se investigó analizando la influencia de BK1-5 sobre la unión de agonistas B_1 y B_2 tritiados.
Resultados*:* BK1-5 indujo aumento de la permeabilidad vascular *in vivo*, comparable en magnitud a la producida por LDBK y BK, incremento en la incorporación de BrdU en fibroblastos 3T3 y fosforilación tiempo-dependiente, pero dosis-independiente de ERK1/2. La cinética de fosforilación generada por BK1-5 fue similar a la producida por LDBK y BK. La fosforilación fue bloqueada efectivamente por dos antagonistas B_1 y parcialmente por un antagonista B_2. Las curvas de saturación de los agonistas B_1 y B_2 tritiados, en presencia de BK1-5, no mostraron diferencias significativas en K_D y B_{max}, pero la unión de cada ligando fue más lenta en presencia del fragmento.
Conclusiones*:* BK1-5 es un fragmento biológicamente activo que provoca aumento de la permeabilidad vascular *in vivo* y proliferación celular y que parece interactuar con ambos receptores de cininas.
Financiado por DID UACh 2005-09, Beca CONICYT

(67) EL GEN DE Bcl-2 HUMANO PRESENTA POSIBLES ELEMENTOS DE RESPUESTA A PPARs (The human Bcl-2 gene contains putative PPARs response elements) **Bernal, C.**, Caballero, B., Fuenzalida K., Domínguez, C., Perez-Acle, T., y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) y Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Center for Genomics and Bioinformatics, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Objetivo Los PPARs (peroxisome proliferator activated receptors) son factores de transcripción de la familia de receptores nucleares activados por ligando. Hemos demostrado que la activación y sobreexpresión de PPARγ induce un aumento de la expresión de Bcl-2, generando estabilización mitocondrial y un aumento en la resistencia celular a stress oxidativo. Nuestro objetivo es determinar si existe una interacción directa entre PPARγ y el gen de Bcl-2.
Metodología: Realizamos un análisis bioinformático de *bcl-2* de humano y rata, seleccionamos regiones de alta identidad y realizamos una búsqueda de posibles elementos de respuesta a PPARs (PPRE) en ellas. La interacción entre PPREs y PPARs sintetizados *in vitro* fue evaluada por ensayos de cambios en la migración electroforética (EMSA).
Resultados: De los nueve PPREs seleccionados del análisis bioinformática, cuatro presentan una interacción con PPARs semejante a la del PPRE consenso. Uno de ellos se encuentra ubicado en la región intrónica del gen, los tres restantes se encuentran en la región promotora. La presencia de putativos PPREs en la región intrónica también es observada en el ortólogo de rata.
Conclusiones: En este trabajo nosotros mostramos una interacción directa entre los PPARs y PPREs putativos ubicados en la región intrónica y promotora del gen de Bcl-2 humano. Estamos estudiando la posible interacción in vivo de los PPARs en estos elementos de respuesta.

(68) LA INHIBICIÓN DE AKT O PI3K INDUCE APOPTOSIS DE CÉLULAS GERMINALES EN RATAS MACHOS PREPÚBERES (The inhibition of PI3K or AKT induces apoptosis of germ cells in prepubertal male rats) **Jurriaan Brouwer-Visser** y Ricardo D. Moreno Departamento de Ciencias Fisiológicas, Fac. de Ciencias Biológicas, P. U.Católica de Chile mail@jurriaan.com

Objective: The PI3K/AKT pathway appears to play an important role in cell survival and differentiation in diverse models. In this report we have pharmacologically inhibited PI3K and AKT to investigate their role in this pathway in prepubertal rat spermatogenesis.
Methodology: Testes of prepubertal male rats (n=3 for each experiment) were injected with either Wortmannin (a PI3K inhibitor) or AKT Inhibitor X (Calbiochem). Rats were killed 24 hours after injection and the testes removed. Protein phosphorylation was determined through western blotting, activities of caspases measured through an ELISA assay, apoptotic cells counted through PA-Schiff and TUNEL staining and membrane receptor presence measured through flow cytometry.
Results: Optimal concentrations and incubation times were determined (100nM for Wortmannin, 1μM for AKT Inhibitor X and an incubation time of 24 hours) by evaluating germ cell apoptosis. Caspase-3 activity and apoptotic cell count were greatly increased after drug administration while western blotting showed increases in phospho-MDM2, total-MDM2 and P53. Both caspase-8 and -9 activity seemed unaffected, as did the Fas-, TNF- and DR4/5 receptors' presence in the cell membrane. The c-kit receptor increased its presence in the cell membrane.
Conclusions: Inhibition of the PI3K/AKT pathway clearly increases apoptosis in prepubertal male germ cells. Its inhibition causes increases in downstream targets such as MDM2, p53 and caspase-3 activity, but does not affect the activities of caspases-8 and -9.
FONDECYT 1070360 to RDM

(69) LA EXPRESION DE SINAPSINA Y DINAMINA SON REGULADAS NEGATIVAMENTE POR ZINC INTRACELULAR (Synapsin and dynamin expression are down-regulated by intracellular zinc) **Castro P.** [□§], Sepúlveda F.[§], Waldron, J.[□], Fuentealba J.[§], Roa J.P.[§], Aguayo L.G.[§], & Opazo C[□]. [□]Laboratorio de Neurobiometales, [§]Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. carlosopazo@udec.cl

Objetivos: Los niveles intracelulares de Zn^{2+} podrían regular la comunicación entre neuronas a nivel sináptico y tener implicancias en fenómenos de memoria y aprendizaje, tal como se evidencia en humanos y animales sometidos a dietas deficientes en Zn. Nuestros resultados previos indican que Neocuproína es capaz de alterar los niveles intracelulares de Zn y disminuir los niveles de mRNA para Sinapsina I y Dinamina I. En el presente trabajo evaluamos ele efecto de Neocuproína sobre los niveles de proteínas presinápticas en cultivos primarios de hipocampo.
Metodología: Se determinaron los niveles intracelulares de Zinc con una sonda fluorescente y parámetros electrofisiológicos a través de Patch clamp. Los niveles de las proteínas fueron estudiados por técnicas de Western Blot.
Resultados: La aplicación crónica (12 hr.) de Neocuproína (30 μM) disminuye significativamente ($p < 0.05$) tanto los niveles de los mRNA como la expresión de sinapsina I y dinamina. Estos cambios se correlacionan con cambios agudos en los niveles intracelulares de Zinc, sin alterar parámetros electrofisiológicos como frecuencia y amplitud.
Conclusiones: Estos resultados sugieren, que el componente presináptico de las sinapsis formadas en el hipocampo es sensible a los cambios en los niveles de intracelulares de Zn^{+2}, lo que podría alterar el funcionamiento normal de la red neuronal del hipocampo.
P.C. es becario CONICYT. Financiado por proyectos Fundación Andes C-14060/77, DIUC 205.033.100-1.0 y Anillo ACT-04.

(70) PAPEL DEL RECEPTOR DEL INOSITOL TRISFOSFATO (IP_3R) EN LA REGULACIÓN DE LA AUTOFAGIA (Inositol trisphosphate receptor in the regulation of autophagy) **Alfredo Criollo[1,2],** Jose Miguel Vicencio[1,2], Guido Kroemer[1] y Sergio Lavandero[2]. INSERM U848[1], FONDAP Centro de Estudios Moleculares de la Célula CEMC[2]. acriollo@ciq.uchile.cl

Objetivos: La autofagia es un proceso de adaptación frente a la ausencia de nutrientes. La proteína Beclin-1 es clave en el desarrollo de este proceso, mientras que Bcl-2 del retículo endoplásmico (RE) la atenúa. Estudios previos muestran que IP_3R se distribuye principalmente en el RE y que además inmunoprecipita con Bcl-2 reticular, produciéndose una regulación sobre IP_3R. Este trabajo evaluó el papel del IP_3R y la interrelación con beclin-1 y bcl-2 en el proceso de autofagia inducido por privación de nutrientes**.**
Metodología: En estos estudios se utilizaron células HeLa y Rat-1 transfectadas con LC3-GFP, un marcador específico para las vacuolas autofágicas. El desarrollo de la autofagia se estudió por microscopías de fluorescencia y electrónica. Para intervenir el proceso autofágico y evaluar el papel del IP_3R se utilizaron RNA interferentes dirigidos contra Beclin-1, Atgs, Vps34 y IP_3R-I/III
Resultados: Los resultados mostraron que el knock-dawn para IP_3R-I/III o el bloqueo de este receptor con antagonistas selectivos (xestospongina B/C) indujo la autofagia. Este proceso fue atenuado por RNAs interferentes dirigidos contra Beclin-1, Atg-5-10-12, y Vps34, o por sobrexpresión de Bcl-2 o Bcl-X_L dirigidos específicamente hacia el RE. Además, experimentos de inmunoprecipitación sugieren la presencia del complejo IP_3R/Bcl-2/Beclin-1, donde el uso de un inhibidor químico ABT-737 del dominio BH3 de Beclin-1 alteró la interacción entre IP_3R y Beclin-1.
Conclusión: IP_3R regula negativamente la autofagia y éste interactúa tanto con Beclin-1 y Bcl-2.
Proyectos FONDAP 1501006 (SL) y ECOS CONICYT C04B03 (SL/GK)

(71) LA ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS (MSC) CORRIGE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA EN MODELOS ANIMALES (MSC systemic administration improves diabetic nephropathy in animal models) **Marcelo Ezquer[1],** Fernando Ezquer[1], Daniel Carpio[2], Alejandro Yañez[2], Paulette Conget[1]. [1]Instituto de Ciencias, Facultad de Medicina Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo [2]Instituto de Bioquímica, Universidad Austral. mezquer@udd.cl

Objetivo. Las MSC participan en la regeneración renal en situaciones fisiológicas pero también en condiciones de daño renal agudo. En el presente trabajo se evalúa el potencial efecto terapéutico de la administración sistémica de MSC en modelos animales de Nefropatía Diabética crónica secundaria a diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID) o insulino-resistentes (DMIR).
Metodología. Animales: ratones C57BL/6J. Inducción de DMID: inyección de 1 dosis de streptozotocina (200mg/kg). Inducción de DMIR: alimentación con dieta 58% kcal grasa. Administración i.v. $0{,}5x10^6$ MSC: 4 y 7 semanas post-inducción DMID ó 32 semanas post-inducción DMIR. Seguimiento: albuminuria e histología renal por microscopía óptica y electrónica.
Resultados. En los animales que recibieron MSC, la albuminuria se mantuvo en niveles basales. En cambio, en los animales diabéticos no tratados se observó un aumento progresivo de ésta. El análisis histológico prácticamente no mostró expansión mesangial, dilatación tubular o presencia de cilindros. Todas evidentes en los animales diabéticos no tratados. La administración de MSC no modificó significativamente el estado hiperglicémico de los animales diabéticos.
Conclusiones. La administración sistémica de MSC induce la recuperación funcional y estructural del riñón en animales diabéticos independiente de que no se corrija su hiperglicemia.
Reemplazar el trasplante renal por una estrategia de terapia celular con MSC marcaría un cambio significativo en las posibilidades de tratamiento de los pacientes diabéticos.
Trabajo financiado por proyecto PBCT(PSD34) P.C.

(72) EL EFECTO DE LA SOBREEXPRESIÓN DE MLN64 EN CÉLULAS CHO SUGIERE UN PAPEL POTENCIAL DE ESTA PROTEÍNA EN MUERTE CELULAR (The effect of the overexpression of MLN64 in CHO cells suggests a potential role for this protein in cell death) **Leopoldo Galdames[*],** Juan Tichauer[*], Gabriela Morales[*], Andrés Klein[*], Alejandra Alvarez[#], Silvana Zanlungo[*]. [*]Departamento Gastroenterología, [#]Depto. Biología Celular y Molecular, P. U. Católica de Chile. pologv@gmail.com

Objetivos*:* MLN64 es una proteína capaz de unir colesterol, localizada en endosomas tardíos cuya función es desconocida. Reportamos previamente que la sobreexpresión en ratones de MLN64 mediante adenovirus recombinantes induce daño hepático probablemente por activación de una vía apoptótica. Aquí, evaluamos *in vitro* la correlación entre la sobreexpresión de MLN64 y apoptosis en células CHO-K1 y su efecto sobre la acumulación de colesterol libre.
Metodología*:* Cultivo de células CHO-K1 se transfectaron transientemente con pcDNA3.1, pcDNA3.1/MLN64 o un vector de expresión para la proteína GFP. Se evaluó viabilidad celular (MTT), apoptosis (TUNEL), inmunofluorescencia y acumulación de colesterol libre (filipina).
Resultados*:* La viabilidad en células que expresaron MLN64 disminuyó un 40% respecto al control. Un 32% de células positivas para MLN64 presentaron señal de apoptosis siendo positivas para ensayo de TUNEL, mientras que dicho evento no se observó en células controles. La colocalización MLN64-filipina mostró que del total de células transfectadas con pcDNA3.1/MLN64 el 15% acumuló colesterol intracelularmente.
Conclusiones: Estos resultados sugieren que la sobreexpresión de MLN64 sería un elemento inductor de apoptosis, no sólo en células hepáticas, sino también en células de distinto origen como las células ováricas CHO-K1. El efecto de MLN64 sobre la acumulación de colesterol libre sugiere que este sería un evento que relacionaría a esta proteína con apoptosis. (Proyectos FONDECYT 1030415-1070622).

(73) PKC-α ACTIVATION UP-REGULATES CAVEOLIN-1 AND -2 VIA ERK (MAPK) (La activación de PKC-α incrementa los niveles proteicos de Caveolina-1 y -2 via ERK (MAPK) **Jorge L. Gutiérrez-Pajares[1],** Gareth Owen[2], Lisette Leyton[1], Andrew Quest[1]. [1]FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Fac. de Medicina, Universidad de Chile and [2]Unidad de Reproducción y Desarrollo, P. U. Católica de Chile. aquest@med.uchile.cl

Objective In human endometrial cancer, the protein kinase C (PKC) isoforms alpha/beta participate in drug resistance and metastasis. In other cancers, Caveolin-1 is implicated in similar processes. Here, we determined whether PKCalpha regulates Caveolin-1 expression in Ishikawa human endometrial adenocarcinoma cells.
Methodology*:* The tumor promoting agent 4beta-TPA phorbol ester (100 nM, 24 h) was employed to activate PKCs and induce Caveolin-1 and -2 expression. PKC inhibitors and adenovirus-mediated overexpression were utilized to specifically implicate PKCalpha and downstream signaling pathways were identified using PI3 kinase (LY294002, 10 mM), MEK (PD980059, 50 mM), P38 (SB203580, 0,5 mM) and JNK (SP6000125, 5 mM) inhibitors.
Results*:* 4beta-TPA mediated activation of PKCs correlated with up-regulation of Caveolin-1 and -2. Gö6976 (PKCalpha inhibitor, 0,5 mM), but not Rottlerin (PKCdelta inhibitor, 5 mM), prevented 4beta-TPA induced Caveolin up-regulation. Adenovirus-mediated transduction with dominant-negative PKCalpha precluded 4beta-TPA-induced up-regulation of Caveolins. 4beta-TPA induced up-regulation of Caveolins was blocked by MEK or JNK inhibitors. In Ishikawa cells transduced with wt-PKCalpha 4beta-TPA induced-Caveolin up-regulation was only blocked by the MEK inhibitor.
Conclusions 4beta-TPA-induced PKCalpha activation leads to up-regulation of Caveolin-1 and -2 via an ERK-dependent pathway in Ishikawa endometrial adenocarcinoma cells.
Supported by FONDAP 15010006 (AFGQ), FONDECYT 1070699 (LL), FONDECYT 1060495 (GO), CONICYT Ph.D. fellowship (JLG-P).

(74) D609-INDUCED NECROTIC CELL DEATH IN LYMPHOID CELLS (D609 induce muerte celular necrótica de células linfoides) **Mauricio Henriquez**, Cristian Arredondo, Vicente Torres, Joan Villena and Andrew Quest. FONDAP Center for Molecular Studies of the Cell (CEMC), Facultad de Medicina, U.de Chile. aquest@med.uchile.cl

Objective: Tricyclodecan-9-yl-xanthogenate (D609) reportedly displays antiviral, antitumor, and anti-inflammatory activities. Additionally, D609 has been attributed the ability to reduce oxidative stress in cells. Alternatively, D609 has also been shown to reduce cell survival and promote apoptosis. In this study, we investigated effects induced by D609 in lymphoid cells.
Methodology: A20 and Jurkat cells were cultured at 37ºC and 5% CO_2 in DMEM (containing 50µM ethanol-2-thiol) and RPMI respectively, supplemented with 10% FBS and antibiotics. Following D609 treatment, cell viability, mitochondrial transmembrane potential and intracellular reactive oxygen species (ROS) were evaluated by flow cytometry analysis using propidium iodide, Rhodamine 123 and DH_2DCFDA, respectively.
Results: Exposure to D609 for 16h induced predominantly necrotic cell death (80% dead cells with normal DNA content and 15-20% of hypodiploid dead cells) in a time- and dose-dependent fashion. A large increase in necrotic cells was observed after 12-15h in the presence of 50 and 100µg/ml in A20 and Jurkat cells, respectively. This decrease in viability was preceded by diminished intracellular ATP, a loss of mitochondrial transmembrane potential and increased intracellular ROS. D609-induced necrotic cell death and mitochondrial damage were prevented when the cells were pre-incubated with the anti-oxidant N-acetyl cysteine (5mM).
Conclusion D609 induced necrotic cell death in lymphoid cells by a mechanism involving formation of ROS and subsequent mitochondrial damage.
This work was support by FONDAP 15010006 (AFGQ) and FONDECYT 3070045 (MH).

(75) IDENTIFICACIÓN DE LA MAPK p38 COMO UN ELEMENTO RÍO ABAJO DE LA PKA EN LA REGULACIÓN DE LA ENDOCITOSIS DEL RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL (EGFR) (MAPK p38 as a down stream element of the PKA in the regulation of the endocytosis of the EGFR) **Juan E. Jung** y Alfonso González. Depto. Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad Medicina. Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología "Joaquín Luco" (CRCP). Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile y MIFAB. jjung@puc.cl

Objetivo Hemos mostrado previamente que la endocitosis del receptor de EGF (EGFR) es regulada por la proteína quinasa A (PKA), ya que al inhibir esta quinasa se internaliza el EGFR inactivo, en ausencia de ligando. Los elementos que conectan a la PKA con la maquinaria endocítica son desconocidos. En este trabajo analizamos la participación de la MAPK p38 que ha sido involucrada recientemente en la endocitosis del EGFR**.**
Metodología: En células HeLa que expresan el EGFR endógeno, evaluamos la endocitosis del receptor por microscopia de fluorescencia y por unión de radioligando frente a inhibidores y activadores de la PKA y de la p38.
Resultados La activación de la p38 induce endocitosis del EGFR de manera similar a como lo hace la inhibición de la PKA. Una inhibición de la p38 previene parcialmente el efecto de la PKA.
Conclusiones: Nuestros resultados indican que la p38 es un elemento rio abajo del sistema AMPc/PKA que regula la endocitosis del EGFR inactivo. Este sistema controla la disponibilidad del EGFR en la superficie celular y revela una interacción no descrita entre estas dos quinasas. Experimentos futuros deben explorar sustratos fosforilables por la p38 en la endocitosis del EGFR.
FONDAP 13980001 y MIFAB

(76) A ROLE OF THE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE (UPR) AND ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS IN PRION-RELATED DISORDERS (Rol de la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) en enfermedades relacionadas con priones) **F. Lisbona**[1], M. Torres[1], S. Matus[1], C. Soto[2] and C. Hetz[1]. [1]Inst. de Ciencias Biomédicas, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, U, de Chile, Chile; [2]University of Texas Medical Branch, Galveston, USA. chetz@med.uchile.cl (Patrocinio: A. Quest)

Aims: Study the role of endoplasmic reticulum stress sensors in Prion misfolding and replication.
Background: Prion diseases are fatal and infectious neurodegenerative disorders characterized by the accumulation of an abnormally folded form of the prion protein (PrP), termed PrP^{Sc}. Prion replication triggers endoplasmic reticulum (ER) stress, neuronal dysfunction and apoptosis. ER stress triggers an adaptive response termed the UPR that aims re establishing organelle homeostasis. In this study we analyze the effect of perturbations in ER homeostasis on PrP biochemical properties and prion replication.
Methods: To understand the mechanism by which ER stress generates PrP misfolding, we assessed the contribution of different signaling pathways implicated in the UPR in a cellular model of the disease and in vitro assays for prion replication.
Results: The pharmacological perturbation of ER homeostasis triggers PrP aggregation. Expression of a dominant negative form of UPR components significantly increased PrP aggregation under ER stress conditions, whereas overexpression of UPR components had the opposite affect. Analysis of prion replication *in vitro* revealed that the PrP isoform generated after ER stress is more efficiently converted into PrP^{Sc} compared with the protein extracted from untreated cells.
Conclusions: These findings indicate that ER damaged cells might be more susceptible to prion replication. Since PrP^{Sc} induces ER stress, our data point to a vicious cycle accelerating prion replication, which may explain the rapid progression of the disease.
(Supported by Fondecyt #1070444 and High Q Foundation).

(77) AGONISTAS DE PPARβ Y PPARγ INDUCEN DIFERENCIACIÓN DE PRE-OLIGODENDROCITOS A OLIGODENDROCITOS MADUROS (PPARβ and PPARγ induces differentiation of pre-oligodendrocyte to mature oligodendrocytes) **Martínez, G.R.** y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) y Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Objetivo. Los PPARs son factores de transcripción activados por ligando que regulan la diferenciación y proliferación en varios tejidos y células tumorales. Utilizando agonistas específicos de los PPARs y su sobre-expresión determinamos previamente que PPARβ participa en la diferenciación oligodendrocítica, regulando la expresión de PPARγ y PPARα. Sin embargo, en gliomas PPARβ esta reprimido y su sobre-expresión es necesaria para observar sus efectos. Con el fin de determinar si PPARβ se encuentra reprimido en células no tumorales analizamos el efecto de agonistas específicos de PPARβ y PPARγ en la diferenciación de pre-oligodendrocitos.
Metodología: Para abordar el objetivo mencionado, se realizaron immunofluorescencia para MBP (proteína básica de mielina), PPARβ y PPARγ en cultivos primarios de pre-oligodendrocitos de rata tratados y no tratados con agonistas de ambas isoformas.
Resultados. Encontramos que agonistas específicos tanto de PPARβ como de PPARγ inducen la expresión de MBP. Además, la expresión de PPARγ es aumentada tanto por agonistas de PPARγ como de PPARβ.
Conclusiones. Estos resultados sugieren que la concertación entre las isoformas de PPAR en la diferenciación a oligodendrocitos también esta presente en células no tumorales. Más importante aún, muestra que en pre-oligodendrocitos, a diferencia de células gliales tumorales, PPARβ no está reprimido, sugiriendo que su estado inactivo en gliomas podría estar relacionado con la resistencia a diferenciación de estos tumores, altamente invasivos en humanos.

(78) ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD DE PROLIFERACIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE CULTIVOS PRIMARIOS DE LIGAMENTO PERIODONTAL, PULPA DENTAL Y PERIOSTIO HACIA EL LINAJE OSTEOGÉNICO (Analysis of the proliferative and osteogenic differentiation potential in primary cultures of periodontal ligament, dental pulp and periostium) **Constanza Martínez**[1*], Pablo Astudillo[2], Patricio C Smith[3], Susana Rios[2], J. Pablo Rodríguez[2]. Facultad de Ciencias[1], INTA[2], Facultad de Odontología[3], Universidad de Chile. connymart@yahoo.com

Objetivo: Analizar la capacidad proliferativa y de diferenciación hacia el linaje osteogénico de células obtenidas de ligamento periodontal, pulpa dental y periostio de donantes humanos.
Metodología: Se obtuvieron células a partir donantes humanos sanos. Los tejidos fueron sometidos a disociación con colagenasa y cultivadas en α-MEM (10% suero fetal bovino). En los diferentes subcultivos se analizó la capacidad de proliferación y de diferenciación hacia el linaje osteogénico. Para esto último, las células fueron cultivadas en presencia de dexametasona, ácido ascórbico y beta-glicerofosfato. La diferenciación osteogénica fue evaluada por la producción de fosfatasa alcalina y el depósito de calcio. Además se analizó la expresión de genes característicos del linaje osteogénico por RT-PCR y western-blot.
Resultados: En los tres tejidos la proliferación celular fue disminuyendo con los subcultivos y se observó que todos estos se diferenciaron hacia el linaje osteogénico. La diferenciación osteogénica máxima se evidenció en los primeros subcultivos, como lo revela la expresión de genes relacionados con el linaje osteogénico, la producción de fosfatasa alcalina y el depósito de calcio.
Conclusiones: Las células obtenidas de los tres tejidos proliferaron activamente en cultivo, comportamiento que decayó a medida que avanzaron los subcultivos. En los tres casos las células se diferenciaron hacia el linaje osteogénico. El potencial de diferenciación osteogénico se manifestó durante los primeros subcultivos.
Proyectos FONDECYT # 1050930 (JPR), # 1061065 (PCS)

(79) MUTACIÓN DEL DOMINIO CITOPLASMÁTICO DEL RECEPTOR DE TIPO II PARA BMPS DISMINUYE SU GRADO DE GLICOSILACIÓN (Cytoplasmic domain mutation of type II BMP receptor decreases their glycosylation degree) **Wilda Olivares** y Nelson Osses. Unidad de Bioquímica, Inst. de Química, P. U. Católica de Valparaíso, Chile. (Patrocinio: J. Reyes)

Objetivos: Señalización inducida por BMPs es iniciada por unión del factor a receptores (BMPR) tipo I que reclutan al receptor tipo II o bien a complejos preformados de BMPR-I/II, iniciando vías de señalización distintas. La llegada de BMPR-II a la superficie determina el ordenamiento de los receptores. Mutaciones en su dominio citoplasmático están asociadas a hipertensión pulmonar. En este trabajo nos planteamos estudiar si el dominio citoplasmático incide en el procesamiento de BMPR-II y su expresión en superficie.
Metodología: Generamos clones que expresan reguladamente BMPR-II en su forma completa (wt) y mutado en su dominio citoplasmático (t803fs). Analizamos su expresión en la superficie mediante inmunofluorescencia y biotinilación de superficie, así como la naturaleza y grado de glicosilación mediante tratamiento con endoglicosidasas.
Resultados: BMPR-IIwt y t803fs se observan a niveles similares en la superficie luego de 24-36 h de inducida su expresión, con pesos moleculares aparentes de 152 y 130 kDa para BMPR-IIwt y mutado respectivamente. Tratamiento con endoglicosidasa H, no produjo cambios en el peso molecular, sin embargo, N-glicosidasa F produjo un corrimiento a pesos de 125 y 120 kDa para BMPR-IIwt y t803fs respectivamente.
Conclusiones: Nuestros resultados muestran por primera vez que BMPR-II presenta glicosilaciones, y aunque su expresión no cambia por mutaciones en su dominio citoplasmático, si disminuye el grado de glicosilación, lo cual podría alterar el ordenamiento de receptores en membrana y las vías de señalización inducidas.
(FONDECYT 11060513 Y DI-PUCV 125.715/2007)

(80) DISTRIBUCIÓN INTRACELLULAR DEL PROTEOSOMA 20S DE *Trypanosoma cruzi* (Intracellular distribution of the *Trypanosoma cruzi* 20S proteasome). **Luis Osorio,** Bessy Gutiérrez, Christian Muñoz, Renato Mortara, Hernán Sagua, Jorge Araya, Jorge González. U. de Parasitol. Molec., U.de Antofagasta.

Durante la invasión celular de *Trypanosoma cruzi*, los tripomastigotes luego de tomar contacto con lisosomas se transforman en amastigotes. Este proceso es proteosoma-dependiente y es inhibido por lactacistina. Aunque en células eucarióticas los proteosomas se encuentran en núcleo y citoplasma, su distribución intracelular en *T.cruzi* no es conocida.
Objetivo: Conocer la distribución intracelular del proteosoma en *T.cruzi*.
Métodos: Utilizando el anticuerpo monoclonal 7E5, (IgG1) que reconoce una subunidad alfa de 27 kDa en el proteosona de *T.cruzi* , se estudió mediante inmunoelectromicroscopía y microscopía confocal, la distribución intracelular de proteosoma 20S en los diferentes estadíos del parásito Igualmente, el anticuerpo se utilizó para inmunoprecipitar proteosoma y estudiar la actividad enzimática en los mismos estadios del parásito. Finalmente, el cinetoplasto de *T.cruzi* fue aislado mediante gradiente de iodixinol y un inmunoblot fue realizado y revelado con anticuerpo 7E5.
Resultados: Mediante microscopía electrónica y confocal el proteosoma 20S fue identificados en núcleo, citoplasma y en cinetoplasto. La presencia de proteosoma en cinetoplasto fue confirmada utilizando el anticuerpo 7E5 en un inmunoblot de fracciones purificadas de cinetoplasto aisladas mediante gradiente de iodixinol y mediante inmunoprecipitación de su actividad enzimática evaluada con el sustrato Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC.
Conclusiones: Evidencias bioquímicas y microscópicas muestran que proteosoma esta presente en todos los estadíos de *T.cruzi*, distribuyéndose en núcleo, citoplasma y cinetoplasto. Se postula que la presencia en cinetoplasto, tendría relación con el remodelamiento de este organelo durante la diferenciación celular de tripomastigote a amastigote.
Financiamiento**:** VRA 1321; Fundación Andes C 13955/17

(81) VITAMINA C ESTIMULA DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES (Vitamin C increases stem cells differentiation) **Patricia Pastor*,** Alejandra Silva*, Agustín Martínez[&], Vania Figueroa[&], Francisco Nualart*. *Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, U. de Concepción. [&]Centro de Neurociencia, Valparaiso. ppastor@udec.cl

Objetivos: Durante la vida pre y post-natal las áreas neurogénicas cerebrales se encuentran en contacto con altas concentraciones de vitamina C presentes fundamentalmente en el líquido cefalorraquídeo. De esta forma, hemos sugerido que vitamina C podría participar en la neurogénesis. En este trabajo determinamos la expresión del transportador de vitamina C SVCT2 en el nicho neurogénico de rata adulta y analizamos el efecto de vitamina C en la diferenciación de células troncales P19.
Metodología: Se utilizaron técnicas de inmunofluorescencia y microscopía confocal para determinar: las células presentes en el nicho neurogénico y el patrón de expresión de SVCT2. Las células P19 fueron mantenidas *in vitro* para formar neurósferas que fueron crecidas en presencia o ausencia de 200 y 400 uM ácido ascórbico por 5 días. Utilizando análisis de Western blot, RT-PCR e immunohistoquímica, observamos diferentes marcadores para definir la presencia de células con linaje neuronal, glial o células indiferenciadas.
Resultados: En el nicho neurogénico caracterizamos la distribución de células tipo B (precursores GFAP positivas), tipo A (neuroblastos), tipo E (ependimocitos) y células en mitosis (PCNA positivas). Paralemamente, observamos que SVCT2 se expresa preferentemente en células tipo B y E. Las neurosferas de las células P19 son positivas a nestina y SVCT2, incrementaron su diferenciación neuronal en presencia de vitamina C, sin embargo el efecto fue menos marcado que lo observado con ácido retinoico y con neurobasal/B27.
Conclusiones: Este estudio mostró que SVCT2 se expresa en el nicho neurogénico de rata adulta y que vitamina C promueve una diferenciación neuronal en células P19.
Financiado por Anillo ACT-02.

(82) PARTICIPACIÓN DE CWN-1 (LIGANDO WNT) EN LA DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES $GABA_A$ EN *Caenorhabditis elegans* (Role of CWN-1 (Wnt-ligand) on the distribution of $GABA_A$ receptors in *Caenorhabditis elegans)* **Rebolledo DL**[1]., Minniti AN[1], Mesa RA[1], Kohn RE[2] e Inestrosa NC[1]. [1]Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), FCB, P. U. Católica de Chile. [2]Ursinus College, USA. dvreboll@uc.cl

Objetivo La vía Wnt controla procesos de desarrollo y es esencial para el mantenimiento del sistema nervioso. Componentes de la vía Wnt participan en la agrupación de ACh-R en la NMJ. Nuestro objetivo es determinar la participación de la vía Wnt en la distribución de $GABA_A$-R en la unión neuromuscular, usando el modelo *Caenorhabditis elegans* y el ligando CWN-1.
Metodología: La cepa RB763 presenta una deleción para el gen *cwn-1* (uno de los cinco ligandos Wnt en *C. elegans)* y fue manipulada genéticamente para sobreexpresar la subunidad UNC-49B del $GABA_A$-R unida a GFP. El patrón de distribución de $GABA_A$-R::GFP fue analizado a través de microscopía de fluorescencia y los cambios fueron cuantificados.
Resultados: La distribución de los $GABA_A$-R::GFP, expresado como número de puntas en el cordón dorsal, fue significativamente menor en la cepa *cwn-1*$^{-/-}$ en comparación al control. Se observaron también acumulaciones intramusculares del $GABA_A$-R::GFP, mucho más numerosas en la cepa mutante, que se localizan preferentemente en el cordón dorsal.
Conclusiones: Estos resultados sugieren que CWN-1 tiene un papel regulatorio en el tráfico y distribución de los $GABA_A$-R. Estudios en *C. elegans* han mostrado que en ausencia de inervación estos receptores son transportados a autofagosomas musculares. Actualmente estamos tratando de determinar si la mutación de *cwn-1* afecta la inervación muscular y si las acumulaciones de $GABA_A$-R::GFP corresponden a autofagosomas.
Financiamiento: FONDAP 13980001

(83) ERK1/2 EN LA PROTECCIÓN DEL CARDIOMIOCITO AL ESTRÉS HIPOSMÓTICO (ERK1/2 on the protection of cardiac myocyte to hyposmotic stress) **Rojas-Rivera Diego**, Jessica Díaz-Elizondo, Daniela Salas, Mario Chiong, Sergio Lavandero. Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile. diego_qf@yahoo.es

Objetivo: Los cardiomiocitos se exponen a cambios osmóticos en la isquemia/reperfusión. Previamente, describimos que el estrés hipósmótico (EH) aumenta el calcio intracelular ($[Ca]_i$), genera especies reactivas del oxígeno (ROS) y estimula la formación de blebs y necrosis. Sin embargo se desconoce si se activan señales de sobrevida como ERK1/2, prevaleciendo la necrosis por sobre la apoptosis.
Metodología: Cultivos de cardiomiocitos se expusieron a EH (202 y 248 mOSm). Los niveles de ERK1/2 total y fosforilada se analizaron por Western blot. La apoptosis se determinó por fragmenatción del DNA usando yoduro de propidio y citometría de flujo.
Resultados: El EH aumentó rápida y transitoriamente la fosforilación de ERK1/2, con un máximo a los 5 min, independiente del tipo del grado de EH. ERK1/2 se activó frente a EH 248 mOsm, siendo este efecto dependiente del $[Ca]_i$. La inhibición de la vía ERK1/2 incrementó la apoptosis inducida por EH.
Conclusiones: El EH activa ERK1/2 como parte de una respuesta antiapoptótica, siendo modulada por el $[Ca]_i$ bajo condiciones de EH leve. Sin embargo, esta señal se independizó del $[Ca]_i$ a mayor EH. La activación de ERK1/2 es parte de una compleja red de señales que se activan en respuesta al EH y que concluyen en muerte o sobrevida celular.
FONDAP 15010006

(84) REGULACIÓN ALTERADA DE LA EXPRESIÓN DE RUNX2 Y DE CBFB EN CÉLULAS DE OSTEOSARCOMA DURANTE EL CICLO CELULAR (Regulation of Runx2 and CbfB expression is altered during osteosarcoma cell cycle) **Inga San Martín**[1], Marcia Gaete[1], Karina Villegas[1], Omar Flores[1], Jane Lian[2], Janet Stein[2], Gary Stein[2], Andre van Wijnen[2], Mario Galindo[1]. [1]Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Fac. de Medicina, U. de Chile. [2]Department of Cell Biology and Cancer Center, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, USA. ingasmp@gmail.com

Objetivo: El normal desarrollo óseo en mamíferos requiere la expresión y función del factor de transcripción Runx2, para el control de la proliferación, el compromiso de linaje y la diferenciación de las células óseas. La asociación de Runx2 con su co-factor Cbfβ es determinante en el proceso de diferenciación ósea *in vivo*. Los niveles de Runx2 son regulados negativamente por el ciclo celular en pre-osteoblastos y estabilizados a través de la interacción con Cbfβ, protegiendo a este factor de ser degradado vía proteosoma. La hipótesis propone que la expresión de Runx2/Cbfβ está acoplada durante el ciclo celular.
Metodología: Los niveles de proteína y RNAm para Runx2/Cbfβ se analizaron mediante western y northern blot en líneas celulares de pre-osteoblastos y de osteosarcoma, sincronizadas y tratadas alternativamente con inhibidor del proteosoma. Además, se analizó la localización sub-celular de Runx2/Cbfβ.
Resultados:La expresión de Runx2/Cbfβ es regulada por el ciclo celular en pre-osteoblastos; en cambio, en osteosarcoma se observó expresión estable de ambos factores en concordancia con la desregulación de los eventos proliferativos y de la expresión de marcadores de diferenciación.
Conclusiones: Así, estos hallazgos explican la presencia de marcadores de diferenciación regulados por Runx2 en células de osteosarcoma en activa proliferación.
Financiamiento**:** Fondecyt 1040772

ç

(85) PAPEL DE LA $[Ca^{2+}]$ LIBRE INTRACELULAR EN LA PERMEABILIZACIÓN CELULAR POR HEMICANALES EN RESPUESTA A INHIBICIÓN METABÓLICA (Role of free intracellular $[Ca^{2+}]$ in cell permeabilization through hemichannels induced by metabolic inhibition) **Kenji Shoji**, Kurt Schalper, Mauricio Retamal, Juan C. Sáez. Pontificia U. Católica de Chile.

Objetivos. La inhibición metabólica (IM) aumenta la permeabilidad celular mediante hemicanales (HCs) formados por conexina43 (Cx43) en diversos tipos celulares, lo que se asocia a un incremento paralelo en los niveles de HCs. Se estudió la participación de la concentración de Ca^{2+} libre intracelular, ($[Ca^{2+}]_i$), sobre la permeabilización celular inducida por IM.
Metodología: Células HeLa transfectadas con la Cx43 (HeLa-Cx43) fueron sometidas a IM (antimicina A y iodoacetato). La $[Ca^{2+}]_i$ se midió con Fura-2 y la permeabilización celular se evaluó mediante la captación de etidio (5 µM, Etd) ("time lapse"). Los niveles de HCs-Cx43 se determinaron mediante biotinilación de proteínas de superficie e inmunotransferencia. La participación de la $[Ca^{2+}]_i$ se evaluó utilizando BAPTA-AM y el ionóforo de Ca^{2+} 4-Br-A23187. Se utilizaron células HeLa parentales como controles negativos.
Resultados: La IM aumentó progresivamente los niveles de $[Ca^{2+}]_i$ solo en células HeLa-Cx43 y dicho aumento fue sensible a La^{3+}. BAPTA previno parcialmente el incremento en la $[Ca^{2+}]_i$, en la velocidad de captación de Etd (85 ± 6% y 50 ± 12%, respectivamente) y el aumento en la cantidad relativa de HCs inducido por IM (72 ± 28%). 4Br-A23187 imitó el efecto de IM sobre los parámetros estudiados.
Conclusiones: El aumento en la $[Ca^{2+}]_i$ inducido por IM en las HeLa-Cx43 participa en la respuesta de permeabilización celular provocando un incremento en los niveles de HCs de superficie.

(86) LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR ErbB2 ESTÁ ASOCIADA A LA MUCOSA METAPLÁSICA DE LA VESÍCULA BILIAR, ETAPA PREVIA AL DESARROLLO DE LA NEOPLASIA (The expression of ErbB2 receptor is associated to epithelial metaplasia, an early stage of gallbladder carcinoma) **Toledo C.**, Del Pozo M, Figueroa CD, Poblete MT. Inst. de Anatomía, Histol. y Patolog., U. Austral de Chile; Serv. de Anatomía Patológica, Hospital Regional, Valdivia.

Objetivos*:* El cáncer de vesícula biliar es una neoplasia de alta malignidad, que afecta mayoritariamente a mujeres y que se detecta habitualmente en estadios avanzados. Determinamos, en la vesícula biliar preneoplásica y neoplásica, la expresión de marcadores que han sido ampliamente utilizados en la caracterización del cáncer de mama en la cual son reconocidos como factores de mal (ErbB2 y catepsina D) y buen pronóstico (receptor de estrógeno)**.**
Metodología: Se seleccionaron cuarenta casos con lesiones preneoplásicas (metaplasia intestinal) y neoplásicas (carcinoma *in situ* y carcinoma invasor). Las muestras fueron fijadas y procesadas por métodos convencionales. La detección de cada marcador se realizó utilizando anticuerpos monoclonales (ErbB2, receptor estrógeno) y policlonales (catepsina D) y el método biotina/streptavidina-peroxidasa.
Resultados*:* El análisis inmunohistoquímico mostró que ErbB2 estaba ausente en el epitelio vesicular normal, pero se expresaba en casi la totalidad (90%) de las muestras con metaplasia intestinal y con carcinoma *in situ* (88%), disminuyendo su frecuencia en el carcinoma invasor (25%). La frecuencia de expresión para catepsina D fue similar en el epitelio preneoplásico como neoplásico, pero a diferencia de ErbB2 estaba también presente en el epitelio normal. Por el contrario, no se detectó presencia del receptor de estrógeno en ninguna de las lesiones analizadas.
Conclusiones*:* La alta frecuencia de expresión de ErbB2 en el epitelio metaplásico y con carcinoma *in situ* sugiere que este receptor participa activamente, al igual que en las lesiones preinvasoras del cáncer de mama, en la proliferación del epitelio de la vesícula biliar.

(87) PPARβ PARTICIPA EN LA DIFERENCIACIÓN AL LINAJE OLIGODENDROCÍTICO Y SE ENCUENTRA REPRIMIDO EN LÍNEAS CELULARES PROVENIENTES DE GLIOMAS (PPARβ participates in differentiation to the oligodendrocyte lineage and it is repressed in glioma cell lines) **Urrutia, C.R.,** Leisewitz, A.V. y Bronfman, M. Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) y Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology, Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Objetivos: PPARs (Peroxisome Proliferator Activated Receptor) son factores de transcripción activados por ligando que regulan diferenciación y proliferación en numerosos tejidos y células tumorales. En la línea celular C6, glioma de rata, sólo agonistas de PPARγ, inducen diferenciación a oligodendrocitos. Sin embargo, la sobre-expresión de PPARβ induce expresión de PPARγ y PPARα, los cuales participan, respectivamente, en diferenciación a oligodendrocitos y expresión de enzimas peroxisomales involucradas en síntesis de mielina. El objetivo del presente trabajo es esclarecer esta aparente contradicción entre la activación por agonistas y la sobre-expresión de PPARβ.
Metodología: Para lograr el objetivo se estudió el contenido de PPARβ y actividad transcripcional (gen reportero y agonistas específicos) en células C6 y en una línea celular derivada de un glioma humano (U87).
Resultados: En ambas líneas celulares encontramos las tres isoformas de PPAR por immunofluorescencia**, "***western blot"* y PCR, pero su actividad transcripcional es muy baja, a excepción de PPAR en células C6. Sin embargo, al sobre-expresar PPARβ su actividad transcripcional aumenta así como la de PPARγ y PPARα.
Conclusiones: Se postula la existencia de un activo cross-talk entre los PPARs en la diferenciación a oligodendrocitos; sugiriendo que en gliomas PPARβ está reprimido lo que podría ser una de las causas del fenotipo indiferenciado y altamente maligno de estos tumores en humanos.

(88) PARTICIPACIÓN DE DINAMINA-1 EN LA ENDOCITOSIS DEL RECEPTOR GABA$_B$ (Participation of dynamin-1 in endocytosis of GABA$_B$ receptor) **Vargas K.J.** [‡§] y A. Couve [§]. [‡] Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile; [§] Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. karinaj.vargas@gmail.com

Objetivos: Los receptores GABA$_B$ se acoplan a proteína G y median el componente lento de los potenciales postsinápticos inhibitorios y la inhibición presináptica de las corrientes de Ca2+ Recientemente identificamos una interacción entre la subunidad GABA$_B$R1 y dinamina-1, una proteína involucrada en fisión de membranas, principalmente en la endocitosis mediada por agonista. El objetivo de este trabajo es caracterizar la endocitosis del receptor GABA$_B$ y la participación de dinamina-1 en este proceso.
Metodología 1) Espectrometría de masa de complejo proteico asociado al receptor GABA$_B$. 2) Inmunoendocitosis para evaluar la internalización del receptor en presencia del vehículo, GABA y monensina a 37°C por 1hr. 3) Inmunoendocitosis coexpresando dinamina-1 WT o K44A (un dominante negativo que bloquea la endocitosis). 4) Coinmunoprecipitaciones del receptor GABA$_B$ y dinamina-1.
Resultados Dinamina-1 fue identificada por espectrometría de masa como parte de un complejo proteico asociado al receptor GABA$_B$. Dinamina-1 fue coinmunoprecipitada con GABA$_B$R1 desde extracto total de cerebro de rata. Se observó una robusta endocitosis del receptor GABA$_B$ en células HEK y neuronas. Este fenómeno fue bloqueado en su totalidad al expresar dinamina-1 K44A.
Conclusiones: El receptor GABA$_B$ utiliza una vía clásica de endocitosis en la cual participa dinamina-1. Esto resuelve la controversia con respecto a este fenómeno y asienta el estudio de fenómenos tales como tolerancia y taquifilaxis para los receptores GABA$_B$.
Financiamiento: Conicyt, Fondecyt 1071001, ICM-P04-068-F

(89) ANGIOTENSINA II GATILLA APOPTOSIS EN FIBROBLASTOS CARDIACOS QUE SOBREXPRESAN EL RECEPTOR AT1 (Angiotensin II triggers apoptosis of cardiac fibroblast overexpressing AT1 receptor) **Raúl Vivar-Sánchez**, Francisca Mateluna, Sergio Lavandero, Guillermo Diaz-Araya. Centro FONDAP-CEMC. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Fabian_fyc_uc@hotmail.com

Objetivo: Investigar los mecanismos por los cuales Angiotensina II (Ang II) gatilla la apoptosis del fibroblasto cardiaco que sobrexpresa el receptor AT1
Metodología: Cultivos primarios de fibroblastos cardiacos de rata se transducieron con el adenovirus Ad-AT1R por 24h. La apoptosis se evaluó por pérdida del potencial de membrana mitocondrial (ψMMP), procesamiento de procaspasa-3 y viabilidad por citometría de flujo/ioduro de propidio. Los niveles de la proteínas pro-apoptótica bax y anti-apoptótica Bcl2 se determinaron por Western blot.
Resultados: Ang II disminuyó la viabilidad del fibroblasto cardiaco de manera dependiente del tiempo y concentración. Ang II también estimuló una pérdida del ψMMP (después de 6 h), procesamiento de procaspasa-3 y fragmentación del DNA intranucleosomal (a las 18 h), sugiriendo que este péptido activó un proceso apoptótico dependiente de caspasas. Además todos estos efectos fueron antagonizados por losartan (bloqueador selectivo de los AT1R) y atenuados por inhibidores de la vía de señalización PLC-PKC que se activa por estimulación del AT1R por Ang II. Este péptido también produjo un desbalance de la proporción entre las proteínas Bax/Bcl2, favoreciendo la apoptosis por mayor expresión de bax.
Conclusiones: Angiotensina II gatilla la apoptosis del fibroblasto cardiaco por activación de la vía AT1R-PLC-PKC.
FONDECYT 1061059 (GDA), FONDAP 1501006 (SL)

(90) ESTUDIOS DE CO-LOCALIZACIÓN ENTRE FBPasa E INSULINA EN PÁNCREAS DE RATAS NORMALES EN DESARROLLO Y DIABÉTICAS DE LARGO PLAZO (Co-localization studies between FBPase and insulin in pancreas of normal developing and long-term diabetic rats) **Romina Bertinat**, Francisco Westermeier, Zahady Velásquez, Moisés Pérez, Joaquín Vivar, Francisco Montero, Juan Carlos Slebe y Alejandro J. Yáñez. Laboratorio de Enzimología, Universidad Austral de Chile. Valdivia-Chile. rominabertinat@uach.cl

OBJETIVO: Recientemente, demostramos la expresión de una nueva isoforma de fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) en páncreas de rata, específicamente en células β. Decidimos analizar su co-localización con insulina en páncreas de ratas en desarrollo y ratas diabéticas de largo plazo.
METODOLOGÍA: Utilizando anticuerpos específicos, inmunofluorescencia y microscopía confocal, se analizó la distribución subcelular de FBPasa e insulina.
RESULTADOS: FBPasa presenta un patrón de distribución puntiforme y se localiza en el citoplasma de las células β, co-localizando parcialmente con insulina, desde el primer día de vida. En páncreas, la localización citoplasmática de FBPasa no se altera, a diferencia del hígado, donde FBPasa es capaz de translocar entre el núcleo y el citoplasma de los hepatocitos. En ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina, la eliminación selectiva de las células β suprime la expresión de FBPasa, confirmando la expresión exclusiva de esta enzima en las células secretoras de insulina.
CONCLUSIONES: La expresión de FBPasa en islote de Langerhans desde el primer día de vida del animal, junto con su distribución subcelular exclusivamente citoplasmática y la co-localización con una población de vesículas de insulina en la célula β, sugiere que FBPasa pancreática tiene una importante implicancia en el desarrollo y la función de las células secretoras de insulina.
FONDECYT 1051122, 1051057; DID-UACH 2006-12; PBCT/ CONICYT IPA 005

(91) EFECTOS DE STEM CELL FACTOR SOBRE LA REGULACIÓN DE pH INTRACELULAR EN CÉLULAS ESPERMATOGÉNICAS DE RATA (Effects of stem cell factor on pHi regulation in rat spermatogenic cells) **Escobedo Noelia A.[1],** Moreno Ricardo D.[2], Benos Dale J.[3] y Reyes Juan G.[1,3]. Instituto de Química, P. U. Católica de Valparaíso[1], Fac.de Ciencias Biológicas, P. U. Católica de Chile[2], Department of Physiology and Biophysics, University of Alabama-Birmingham[3]. nescobedo@gmail.cl

Objetivos: En la espermatogénesis, el receptor c-kit y su ligando *Stem Cell Factor* (SCF) actúan como factores de sobrevivencia durante la progresión de las células germinales. En otros tipos celulares, SCF activa el intercambiador Na^+/H^+(NHE).
Los mecanismos por los cuales SCF regula sobrevida en células espermatogénicas no se conocen**.**
Metodología: Dado que la expresión de NHE y su función en células espermatogénicas no se ha demostrado, estudiamos la expresión y funcionalidad de distintas isoformas de NHE en túbulos seminíferos de rata y los efectos de SCF sobre homeostasis de pHi en células espermatogénicas mediante Western blot, RT-PCT y espectrofluorescencia
Resultados: Nuestros resultados muestran expresión de NHE1, NHE2 y NHE5 en túbulos seminíferos de rata. Ensayos de funcionalidad reafirman nuestros hallazgos, por inhibición del transporte de H^+ en ausencia de Na^+ y con el inhibidor amilorida. Encontramos además que SCF produjo una estabilización del pHi en estas células, aunque esto parece no ser dependiente del antiporte NHE. Glucosa como fuente de sustrato, disminuyó el pHi en las células espermatogénicas, y precondiciona estas células a la acción de SCF, el cual basifica el pHi.
Conclusiones: NHE se expresa y es funcional en células espermatogénicas y SCF modula los mecanismos de regulación de pHi en estas células, especialmente ante una perturbación metabólica con glucosa.
(Financiamiento: Fondecyt 1040800 y VRIEA/PUCV)

(92) MODULACIÓN EN LA ACTIVIDAD Y LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE FBPasa EN DISTINTAS CONDICIONES METABÓLICAS (Modulation in the activity and subcellular localization of FBPase in different metabolic conditions) **Juan Pablo Pontigo,** Romina Bertinat, Carlos Spichiger, Juan Carlos Slebe y Alejandro Yánez. Laboratorio de Enzimología, Universidad Austral de Chile. jppontigo@gmail.com

Objetivos: La fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) es una enzima clave en la vía gluconeogénica. Previamente hemos determinado que dependiendo de las condiciones metabólicas de la célula cambia su localización subcelular. Es por esta razón, que pretendemos determinar la actividad de FBPasa en núcleo o citoplasma en distintas condiciones metabólicas y patológicas.
Metodología Se extrajeron proteínas citosólica y nucleares desde hígado de ratas normales, ayunadas y re-alimentadas. Estos extractos fueron utilizados para medir la actividad enzimática de FBPasa y realizar ensayos de Western blot con anticuerpos específicos contra esta enzima y distintos marcadores.
Resultados Se detectó la presencia de la proteína de FBPasa en núcleo y citoplasma de ratas normales y diabéticas. La actividad citosólica y ausencia nuclear fue detectada en condiciones de ayuno y diabetes. Se detectó FBPasa a nivel nuclear solo en condiciones de re-alimentación.
Conclusiones Estos resultados nos permiten concluir que FBPasa es capaz de translocar al núcleo en respuesta a distintas señales metabólicas. Además, se encontró en forma activa, postulando una importante función en el metabolismo nuclear. Esto nos lleva a pensar en su posible función nuclear como fosfatasa dentro de este compartimento.
FONDECYT 1051122, 1051057; PBCT/CONICYT IPA 005

(93) ACIDO ASCÓRBICO INHIBE EL TRANSPORTE DE GLUCOSA EN ASTROCITOS QUE EXPRESAN GLUT3 (Ascorbic acid inhibits glucose transport in astrocytes expressing GLUT3) **Felipe Beltrán[1]**, Cristian Zaelzer[2], Ilona I. Concha[1] y Maite Castro[1]. [2]Laboratorio de Biofísica, CECS, [1]Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. macastro@uach.cl

Antecedentes*:* El ácido ascórbico (AA) se encuentra altamente concentrado en el SNC y su concentración aumenta con la actividad neuronal. Previamente demostramos que un aumento de AA intracelular es capaz de inhibir la utilización de glucosa en neuronas bajo actividad sináptica glutamatérgica. Determinamos que el AA intracelular inhibe el transporte de glucosa en neuronas, pero no en astrocitos. Las células cerebrales expresan transportadores de glucosa (GLUTs), destacando la exclusiva expresión de GLUT3 en las neuronas del SNC. **Objetivo*:*** Ya que los astrocitos carecen de GLUT3, en este trabajo exploramos si este transportador está involucrado en la inhibición del transporte de glucosa mediada por AA. **Metodología y Resultados*:*** Con este fin desarrollamos cultivos primarios de astrocitos de corteza de rata en los cuales demostramos la presencia de GLUT1 y no de GLUT3. Mediante transfecciones agudas logramos la expresión de GLUT3-EGFP en los cultivos. La expresión (astrocitos nativos) y sobre expresión (astrocitos transfectados) de GLUTs fue confirmada mediante análisis funcionales utilizando desoxiglucosa (DOG) radiactiva. Finalmente, estudiamos el efecto AA sobre la incorporación de DOG en los astrocitos. AA intracelular inhibió la incorporación de DOG en astrocitos expresando GLUT3-EGFP. No observamos efecto en los cultivos no transfectados. **Conclusión*:*** Por consiguiente, nuestros resultados sugieren que AA intracelular es capaz de inhibir el transporte de glucosa mediante un mecanismo que requiere la participación de GLUT3. FONDECYT1060135, DID-UACh-S200745.

(94) EFECTO DE GLUTAMATO EN LA ACUMULACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN ASTROCITOS (Glutamate effect in astrocytes vitamin C accumulation) **Pedro Cisternas** y Francisco Nualart. Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción. pecister@udec.cl

Objetivos: Se ha demostrado que glutamato modifica la homeostasis de diferentes metabolitos en el cerebro. De esta forma analizamos el efecto de glutamato en la captación y reducción de la forma oxidada de la vitamina C, ácido deshidroascórbico (DHA), utilizando como modelo astrocitos mantenidos en cultivo por 15 y 30 días**.**
Metodología: Se utilizaron técnicas inmunohistoquímicas asociadas a microscopia confocal para determinar la expresión de GLUT1 en cerebro y en cultivos primarios de astrocitos de 15 y 30 DIV. Además, se analizó el efecto de glutamato en la captación y reducción del DHA en los cultivos primarios de astrocitos de 15 y 30 DIV, de esta forma, realizamos estudios de transporte utilizando DHA radioactivo y HPLC.
Resultados: Se determinó que los astrocitos *in vivo* expresan el transportador GLUT1 y que este transportador se localiza preferentemente en los pies vasculares de los astrocitos. En los cultivos primarios determinamos que los astrocitos incrementan la expresión del transportador GLUT1 incorporando una mayor cantidad de DHA y glucosa. Al realizar los estudios funcionales, determinamos que la presencia de glutamato modifica la capacidad de los astrocitos para captar DHA debido a que a los 15DIV, glutamato estimula la captación de DHA observado un efecto diferencial en los astrocitos de 30DIV. Por último, determinamos que los astrocitos de 15 y 30DIV son capaces de reducir el DHA incorporado y que este proceso es estimulado en presencia de glutamato.
Conclusión: Glutamato modula diferencialmente la captación y reducción de DHA en astrocitos de 15 y 30 DIV.
Financiado por Anillo ACT-02.

(95) DISMINUCIÓN DE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE eNOS E iNOS POR EL PÉPTIDO NATRIURÉTICO CEREBRAL EN MÚSCULO LISO MIOMETRIAL (Reduced expression and activity of eNOS and iNOS by brain natriuretic peptide in myometrial smooth muscle) [1]**Delpiano, A.M.**, [1]Cuello, M., [2,3]Escudero, C., [2,3]Sobrevia, L., [2,3]Casanello, P., [1]Carvajal, J.A. [1]Laboratorio de Medicina Materno-Fetal, [2]Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), [3]Laboratorio de Investigación en Perinatología (PRL), Departamento de Obstetricia y Ginecología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. delpiano@med.puc.cl

El péptido natriurético cerebral (BNP) activa receptores A y B (acoplados a guanilato ciclasa), y C (clearance, NPR-C), e inhibe la contractilidad del miometrio humano, un fenómeno asociado a quiescencia miometrial. **Objetivo**: Determinar el efecto de BNP en la expresión y actividad de eNOS e iNOS en miometrio humano. **Metodología:** Cultivos primarios de músculo liso de miometrio humano (>38 semanas, sin trabajo de parto) fueron incubados (6 horas) con BNP (100 nM) y/o el agonista del NPR-C, cANP (100 nM). Se determinó la actividad NOS (ensayo de L-citrulina), nivel de mRNA (RT-PCR), y abundancia de las proteínas eNOS e iNOS (Western blot). **Resultados:** BNP y cANP disminuyen la actividad de NOS. Estas moléculas también disminuyen la abundancia de la proteína y el nivel de mRNA de iNOS, pero solamente disminuyen el mRNA para eNOS. Los efectos de estas moléculas por separado son potenciados al co-incubar las células. **Conclusión**: BNP regula la expresión de eNOS e iNOS mediante la activación diferencial de los receptores A, B y C, e induciría relajación del músculo liso del miometrio humano sin trabajo de parto por un mecanismo independiente de la síntesis de NO.
C.E. tiene beca doctoral MECESUP-PUC. FONDECYT 1070865.

(96) FALTA DE FUNCIÓN DE hif-1α Y hif-2α DURANTE EL DESARROLLO EN PEZ CEBRA (Knock-down of hif-1α and hif-2α in zebrafish development) **Daniela Pérez-Munizaga[2],** Diego A. Rojas[3] y Ariel E. Reyes[1]. [1]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. [2]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Andrés Bello. [3]Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ariel.reyes@udp.cl

Objetivos: En nuestro laboratorio hemos descrito que los factores inducibles por hipoxia (HIFs) *hif-1α* y *hif-2α* se expresan durante el desarrollo del pez cebra en múltiples territorios, incluyendo cabeza, somitos, notocorda y vasos sanguíneos. En nuestro trabajo estudiaremos el papel de estos factores de transcripción en el desarrollo del pez cebra.
Metodología: Se microinyectaron oligonucleótidos antisentido (morpholinos) específicos contra la región ATG de *hif-1α* y *hif-2α* en embriones de estadio de una célula. Embriones inyectados con morpholino (morfantes) se analizaron por hibridación *in situ* usando marcadores diferentes etapas del desarrollo gastrulación (goossecoid y chordin), neurulación (*hgg, foxd3, tfAP2, sna1b*) y formación del sistema vascular (*flk1*, *flt4* y *vegf*).
Resultados: Embriones morfantes *hif-1α* mostraron alteraciones en la expresión de marcadores como *gsc, dlx3, ntl, sna1b, fxd3, tfAP2*. Embriones morfantes *hif-2α* mostraron defectos en el desarrollo de vasos sanguíneos, observándose defectos en el desarrollo de vasos intersegmentales a las 48 horas post-fertilización y defectos en la expresión de marcadores de vasos sanguíneos *flk1*, *flt4* y *vegf*.
Conclusiones: La falta de función de *hif-1α*, evidenciado por la alteración de marcadores de gastrulación y neurulación, sugiere que *hif-1α* participaría en el establecimiento de territorios en donde ocurren movimientos de extensión y convergencia. En cambio, la falta de función, de *hif-2α* sugiere que este gen estaría participando en formación de vasos sanguíneos, un evento tardío en la embriogénesis.

(97) INTERACCIÓN DE LA PROTEÍNA QUINASA SPAK CON EL CANAL DE CLORURO CLC-2. EFECTO SOBRE LA CINÉTICA DE DESACTIVACIÓN DEL CANAL (Interaction between SPAK protein kinase and ClC-2 chloride channel. Effect on the deactivation kinetics of the channel) **Carola Maturana[1,2],** María I. Niemeyer[1] y Pablo Cid[1]. Centro de Estudios Científicos, (CECS)[1] Valdivia y Universidad Austral de Chile[2]. pcid@cecs.cl

Objetivos: Algunas proteínas relacionadas con el transporte transepitelial de NaCl son moduladas por SPAK (STE20/SPS1-related-proline-alanine-rich kinase). Se postula que ClC-2, que se expresa en el epitelio superficial del colon, participa en la absorción de electrolitos y fluido. En su extremo N-terminal tiene un motivo de consenso para unir SPAK (SPAK-BM). Aquí estudiamos el efecto de mutaciones en dicho motivo en la actividad del canal y la interacción entre el ClC-2 y la quinasa.
Metodología: Utilizamos canales recombinantes expresados agudamente en células HEK-293. Los estudios funcionales se realizaron mediante *patch-clamp* y la interacción proteína-proteína se analizó mediante co-inmunoprecipitación.
Resultados: La deleción del segmento que contiene el SPAK-BM acelera la cinética de desactivación del ClC-2 (constante de tiempo, t_1 = 531 ms vs. 1640 ms en el control.). Una mutación puntual que anula el SPAK-BM produjo un efecto similar. El ClC-2 de *Drosophila* carece del SPAK-BM y posee una cinética de cierre rápida (t_1 =347 ms), la que se enlentece (t_1 = 877 ms) al crear el SPAK-BM mediante mutagénesis. Adicionalmente encontramos que SPAK co-inmunoprecipita con ClC-2.
Conclusiones: Los efectos de la mutagénesis de un sitio SPAK-BM sobre la cinética de cierre de ClC-2 y la evidencia de la interacción proteína-proteína entre ClC-2 y SPAK sugieren un efecto regulatorio que podría tener relevancia en la función del canal en los epitelios donde se expresa.

(98) EXPRESIÓN DE GLICÓGENO FOSFORILASA EN PÁNCREAS DE RATAS NORMALES Y DIABETICAS (Expression of glycogen phosphorylase in pancreas of normal and diabetic rats) **Diego Morales**, Francisco Westermeier, Zahady Velásquez, Joaquín Vivar, Juan Carlos Slebe y Alejandro Yáñez. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia. damsch_18@hotmail.com

Objetivos: La acumulación de glicógeno en las células β-pancreáticas en episodios de hiperglicemia sostenida puede dar origen al fenómeno llamado glucotoxicidad de las células-β. Es por esta razón que nos propusimos determinar la expresión diferencial de las isoenzimas de glicógeno fosforilasa, enzima clave en la degradación del glicógeno, en páncreas de ratas normales y diabéticas.
Metodología Se realizaron extracciones de RNA total desde páncreas de ratas normales y diabéticas jóvenes y además, desde ratas en desarrollo. Este tejido también fue usado para extraer proteínas totales. Luego de esto se efectuaron ensayos de RT-PCR y Western blot.
Resultados Se observó que en páncreas de ratas normales, desde 0 a 90 días, se expresa el mRNA de las isoenzimas muscular y cerebral de glicógeno fosforilasa. Lo mismo fue determinado en páncreas de ratas diabéticas de 2 a 8 meses. El estudio de las proteínas de estas isoenzimas corroboran estos resultados.
Conclusiones No fueron observados cambios en la expresión de las isoenzimas para glicógeno fosforilasa en ratas normales y diabéticas. Esto indica que los cambios en la expresión de estas isoenzimas de glicógeno fosforilasa no influyen directamente en el fenómeno de glucotoxicidad de la célula-β.
FONDECYT 1051122, 1051057; PBCT/CONICYT IPA 005

(99) DAÑO CEREBRAL E INFLAMACIÓN INDUCEN LA EXPRESIÓN DEL TRANSPORTADOR SVCT2 (Brain damage and inflammation induce SVCT2 transporter expression) **Alejandra Silva**[1], Katterine Salazar[1], Manuel Cifuentes[2], Margarita Pérez-Martín[2], Francisco Nualart[1]. [1]Anillo de Investigación para el Estudio del Sistema Nervioso, Biología Celular y Aplicaciones Biomédicas. Departamento de Biología Celular, Universidad de Concepción. [2]Laboratorio Fisiología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga.

Objetivos: SVCT2 es un cotransportador de sodio y ácido ascórbico, expresado fundamentalmente en el sistema nervioso. Caracterizamos la expresión de SVCT2 en células gliales activadas en respuesta a un daño traumático y tres modelos que inducen activación célular en el sistema nervioso**.**
Metodología: Realizamos análisis inmunohistoquímico y de microscopía confocal con triple marcaje en cuatro condiciones diferentes. i) Cerebros normales de rata. ii) Cerebros de rata donde se realizó el modelo de herida cortical. iii) Cerebros de ratas inyectados con un adenovirus fluorescente para inducir inflamación. iv) Cerebros de rata inyectados ventricularmente con neuroaminidasa para inducir activación glial.
Resultados En el cerebro normal SVCT2 se expresa en neuronas y células ependimarias. No está presente en astrocitos del parémquima cerebral, sin embargo, detectamos una leve expresión en astrocitos de la barrera marginal. En los tres modelos experimentales utilizados (herida, infección adenoviral e inyección de neuroaminidasa) se observó un aumento en la expresión de SVCT2 a nivel paremquimal. La mayor inducción se observó en la región marginal de corteza cerebral y a nivel del hipocampo.
Conclusiones: La activación de célula gliales generada por daño al tejido cerebral o la inducción de procesos inflamatorios inducen la expresión de SVCT2 en diferentes regiones del SNC.
Financiado Proyecto Anillo ACT-02

(100) THE ENHANCED EFFICACY AND REDUCED TOXICITY OF MULTIFACTORIAL VACCINES COMPARED TO UNITARY ADJUVANTS AS CANCER VACCINES. **Cory L. Ahonen**[1,2], Anna Wasiuk[1,2], Shinichiro Fuse[1], Mary Jo Turk[1,2], Marc M. Ernstoff[3], James D. Gorham[1,4], Ross M. Kedl[5], Edward J. Usherwood[1], Randolph J. Noelle[1,2,6]. [1]Department of Microbiology & Immunology, Dartmouth Medical School and the [2]Norris Cotton Cancer Center, 1 Medical Center Drive, Lebanon, NH 03756, USA; and [3]Medical Oncology Immunotherapy Group, Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, NH 03756, USA; [4]Department of Pathology, Dartmouth Medical School, Lebanon, NH 03756, USA; and [5]Integrated Department of Immunology, University of Colorado Health Sciences Center, Denver, CO 80206.

The identification of Toll-like Receptors (TLR) and their ligands, and TNF-TNFR pairs have provided the first logical, hypothesis-based strategies to molecularly concoct adjuvants to elicit potent cell-mediated immunity via the activation of innate and adaptive immunity. However, the isolated activation of one immune pathway in the absence of others can be toxic, ineffective and detrimental to long-term, protective immunity. Effective engineered vaccines will be combinations of agents that trigger multiple immunologic pathways. The studies presented herein show that the use of the combination of CD40 and TLR agonists as a cancer vaccine platform, as compared to either monotherapy, elicits high frequencies of self-reactive $CD8^+$ T cells, potent, tumor-specific $CD8^+$ memory, $CD8^+$ T cells that efficiently infiltrate tumor, superior therapeutic efficacy, heightened ratios of $CD8^+$ T cells to $Foxp3^+$ T cells at the tumor site and reduced hepatotoxicity. The findings reported herein will provide intelligent strategies for the formulation of multifactorial vaccines to achieve maximal efficacy in cancer vaccine trials in humans.

(101) EFECTO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS SOBRE LA ADHESIÓN, INVASIÓN Y DIFERENCIACIÓN MIOFIBROBLÁSTICA DE FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS (Effect of platelet-rich plasma on cell adhesion, cell invasion and myofibroblastic differentiation in human gingival fibroblasts) **Cáceres M**[1], Hidalgo R[2], Sanz A[2], Riera P[2], Martínez J[1], Smith PC[2]. INTA[1] y Facultad Odontología[2], Universidad de Chile.

Objetivo: En el presente estudio hemos analizado el efecto del plasma rico en plaquetas (PRP), un concentrado autógeno que puede promover la reparación tisular, sobre algunas respuestas celulares involucradas en el fenómeno de reparación gingival.
Metodología: Se obtuvo plasma rico en plaquetas a partir de la sangre venosa de 2 individuos adultos sanos. Por centrifugación se obtuvo una fracción de plasma enriquecida en plaquetas. Cultivos primarios de fibroblastos gingivales (FG) humanos fueron estimulados con plasma pobre en plaquetas (PPP) y con diferentes concentraciones de PRP (10, 25, 50 y 100%).
Resultados: El estímulo de FG con PRP (25, 50 y 100%), estimuló la adhesión sobre fibronectina, el estiramiento celular y el desarrollo de contactos de adhesión focal. Utilizando un ensayo de invasión celular, se observó que el PRP estimuló fuertemente la migración e invasión de una matriz reconstituida de Matrigel. El tratamiento con PRP estimuló a su vez la producción del marcador de miofibroblastos actina muscular alfa (α-sma).
Conclusiones: Nuestras observaciones muestran que actividades celulares críticas para el proceso reparativo pueden ser promovidas por el PRP. Estos resultados sugieren que el PRP puede tener un interesante potencial en la promoción de la reparación tisular a través de los mecanismos aquí descritos.
Financiamiento: Fondecyt Nº1061065.

(102) GENERACIÓN *IN VITRO* DE CÉLULAS T REGULADORAS CON ACTIVIDAD SUPRESORA *IN VIVO* Y POTENCIAL DE HOMING A INTESTINO (Regulatory T cells generated *in vitro* show suppressive activity *in vivo* and a gut-homing phenotype) **De Calisto J[1]**, Reyes PA[1,2], Osorio F[1], Fierro A[3], Bono MR[1] y Rosemblatt M[2,4]. [1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, [2]Universidad Andrés Bello, [3]Clínica Las Condes, [4]Fundación Ciencia para la Vida. jaimedecalisto@yahoo.es

Objetivos: La capacidad de un linfocito para migrar específicamente a un tejido está determinada por la expresión de su patrón de receptores de homing. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del ácido retinoico, un inductor de homing al intestino, sobre la funcionalidad y fenotipo de homing de linfocitos T reguladores (LTreg)**.**
Metodología: LTreg se generaron mediante el co-cultivo de células dendríticas inmaduras con LT vírgenes durante 5 días. Los LTreg resultantes se analizaron para la expresión de marcadores fenotípicos y receptores de homing. También se evaluó la capacidad supresora de estos linfocitos mediante ensayos de inhibición de la proliferación de LT efectores y de la producción de anticuerpos por linfocitos B.
Resultados: Células dendríticas inmaduras incubadas con LT vírgenes originan una población de LT CD4+CD25+CD62L+Foxp3+ con propiedades reguladoras. Estos LTreg inhiben la producción de IgM antígeno específico y la proliferación de LT efectores. La adición de ácido retinoico durante el co-cultivo, induce la expresión de los marcadores de homing a intestino en los LTreg, manteniendo sus propiedades supresoras.
Conclusiones: Nuestros datos proveen un nuevo modelo *ex vivo* para la generación de LTreg con propiedades de homing tejido específicas, los que podrían ser usados como estrategia para el tratamiento de enfermedades inflamatorias asociadas al intestino.
(Financiado por Fondecyt 1060834/1060253/1050023).

(103) CALRETICULINA DE *Trypanosoma cruzi* Y EL PROBLEMA AUTOINMUNE EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS (*Trypanosoma cruzi* calreticulin and the autoimnmune problem in Chaga's disease) **Carolina Hager Ribeiro**[1], María Carmen Molina[1], Lorena Aguilar[1], Margarita Rodríguez[1], Ismael Maldonado[1], Carolina Valck[1], Ramón Martínez[2], Carlos González[2], Wilhelm Schwaeble[3] y Arturo Ferreira[1]. [1]Programa de Disciplinario de Inmunología - Fac. de Medicina - U. de Chile; [2]Facultad de Ciencias Veterinarias - U. de Chile; [3]Department of Infection, Immunity and Inflammation - U. of Leicester, UK. chager@med.uchile.cl

Aim *Trypanosoma cruzi* calreticulin (TcCRT) is immunogenic in humans and mice. Chagas' disease, caused by *T. cruzi*, is an endemic chronic illness affecting 18 million people in Latin America. One hypothesis partially associates its pathogenesis to autoimmunity, since antibodies and T lymphocytes against parasite and self-antigens are present in infected patients and experimentally infected animals. Due to its high homology to human calreticulin (HuCRT), we proposed to evaluate whether TcCRT participates in the autoimmune feature of Chagas' disease.
Methodology: We tested reactivity between anti-TcCRT antibodies (generated in mice immunized with TcCRT) and HuCRT by ELISA. Electrocardiographies in immunized and control mice, as well as histology of the heart, have also been performed.
Results: Sera from TcCRT immunized mice cross-reacted with HuCRT, as compared to sera from control animals. Heart conduction alterations, such as wide PQ, QRS and QT, were observed only in immunized mice. In addition, edema and cell infiltrates were observed in heart sections from immunized but not from control mice.
Discussion Since TcCRT immunization induces antibodies to HuCRT and produces functional and histological alterations of the heart, we conclude that it may play a role in the autoimmune phenomenon.
Funding*:* Bicentennial Research Project ACT 29 - CONICYT - Chile.

(104) REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR TIPO TOLL 4 (TLR4) POR TNFα Y GLUCOCORTICOIDES (Toll-like receptor 4 regulation by TNFα and glucocorticoids) **Ramón D. Pérez**, Rodrigo Valenzuela, Caroll Beltrán, Enzo Candia, Marcela A. Hermoso. Laboratorio de Inmunidad Innata, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

Objetivos: Durante la inflamación de mucosas, las células epiteliales y macrófagos expresan TLR4 y el aumento de citoquinas puede incrementar esta expresión. Sin embargo hasta ahora existe escasa información acerca de su regulación por moléculas proinflamatorias o antiinflamatorias.
Metodología: Utilizamos líneas celulares de macrófagos y epitelio pulmonar tratadas con factor de necrosis tumoral α (TNFα) en presencia o ausencia del glucocorticoide Dexametasona. Evaluamos la regulación de la expresión de TLR4 mediante citometría de flujo, inmunoblot y PCR tiempo real; y la regulación transcripcional de TLR4 utilizando construcciones de la región promotora del receptor.
Resultados: El aumento de la expresión de TLR4 inducido por TNF α tanto a nivel del mRNA como de la proteína, es revertido por la adición de Dexametasona. Este efecto requiere la participación del receptor de glucocorticoides (GR), ya que se revierte con el antagonista RU-486. Los estudios transcripcionales con el promotor de TLR4 indican que al menos un sitio de union de GR (*GRE*) es requerido para la inhibición de la respuesta de TNF α inducida por Dexametasona.
Conclusiones: Colectivamente, estos estudios demuestran un efecto antagónico sobre la expresión de TLR4 por TNFα y Dexametasona que requiere de la unión de GR al promotor de TLR4. Fuertes efectos antagónicos sobre la expresión de TLR4 por moléculas proinflamatorias como es TNFα y antiinflamatorias como los glucocorticoides es claramente evidenciado en estas células.
Financiado por FONDECYT 1050541.

(105) *Neisseria gonorrhoeae* GENERA UNA RESPUESTA INMUNE SUPRESORA DOMINADA POR CÉLULAS INMUNOCOMPETENTES TGFβ-1+ (*Neisseria gonorrhoeae* induces an immune response dominated by TGFβ-1+ immunocompetent cells) **Sebastián Reyes-Cerpa,** Enzo Candia, Kevin Maisey, Lorena Salazar, Juan Carlos Aguillón, María Soledad Hidalgo, Tanya Neira, Claudio Acuña-Castillo, Mónica Imarai. Laboratorio de Inmunología, Depto. de Biología. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (Patrocinio: M.S. Depix)

Objetivo: *Neisseria gonorrhoeae* (Ngo), agente etiológico de la gonorrea, se caracteriza por generar una respuesta inmune débil y no protectora, sugiriendo la existencia de mecanismos de evasión inmune. En este trabajo se caracterizó la respuesta inmune contra Ngo en un modelo murino de infección experimental y la participación de células inmunosupresoras como posibles efectores de evasión inmune.
Metodología: Se utilizó un modelo *in vivo* inoculando ratonas Balb/c intravaginalmente con Ngo y se detectó TGF-β1 en nódulos linfáticos regionales mediante citometría de flujo y RT-PCR. Conjuntamente se utilizó un modelo *in vitro* co-incubando la bacteria con células Raw 264.7 ó células dendríticas (DC) de ratón, detectándose TGF-β1 por citometría de flujo e inmunofluorescencia. En paralelo, se analizó el perfil de citoquinas de estas células por ELISA y el estado de maduración de DC por citometría de flujo.
Resultados: Existe un aumento de TGFβ1 en respuesta a Ngo tanto en linfocitos T CD4+ provenientes de los nódulos linfáticos como en macrófagos y DC co-incubados con la bacteria. Además, cambian los patrones de citoquinas inducidos en estas células y se inhibe la maduración de las DC.
Conclusiones: Los resultados indican que *Neisseria gonorrhoeae* genera una respuesta inmune supresora dominada por células inmunocompetentes TGFβ-1+ a la vez que se afecta la maduración de las DC. Estos efectos pueden constituir eficientes mecanismos de evasión inmune.

(106) PARTICIPACIÓN DE CXCR4b EN LA MIGRACIÓN DE CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE DURANTE LA MIELOPOYESIS PRIMITIVA DE PEZ CEBRA (*Danio rerio)* (Role of Cxcr4b in the migration of immune cells during zebrafish mielopoiesis) **Ruiz P.**, Fernández JA., Concha M.L. Prog. de Anatomía y Biología del Desarrollo. ICBM. Fac. de Medicina, U. de Chile. mconcha@med.uchile.cl

Objetivos: El receptor de quimioquina CRCX4b juega un papel importante en diversos procesos inmunológicos de vertebrados. CXCR4b participa en diversos procesos de migración celular durante el desarrollo de pez cebra. En este trabajo investigamos si CXCR4b está involucrado en procesos de migración de células del sistema inmune durante la mielopoyesis primitiva de pez cebra.
Metodología: Se clonó y visualizó la expresión de genes marcadores de células mieloides primitivas por medio de hibridación *in situ* de embriones completos de tipo silvestre, mutante *odysseus* (*cxcr4b*-/-) y morfante para *cxcr4b*. Se realizaron estudios de migración de macrófagos por medio de microscopía confocal en tiempo extendido. Para determinar la significancia estadística se usó χ^2.
Resultados: La expresión temporal y espacial de genes marcadores de células madres mielopoyéticas (*spi1*) y de neutrófilos (*mpx*) no se ve alterada en mutantes y morfantes de *cxcr4b*, en relación a embriones silvestres. Sin embargo, la expresión del genes marcadores de macrófagos (*l-plastin*) muestra un patrón de marcación ectópica sobre el vitelo en mutantes y morfantes de *cxcr4b.*
Conclusiones: Estos resultados sugieren que CXCR4b participaría en el posicionamiento y migración normal de los macrófagos en pez cebra. Estos resultados son concordantes con la función atribuida a las quimioquinas en procesos de la migración celular durante la embriogénesis.
Financiamiento: CONICYT (PBCT ACT47), MIDEPLAN (ICM P04-068-F), Howard Hughes Medical Institute (INTNL 55005940), Commission of the European Communities (FP6-2004 -NEST-PATH EDCBNL)

(107) EXPRESIÓN Y LOCALIZACIÓN DE RECEPTORES DE QUIMIOQUINAS EN CELULAS TUMORALES DEL CÁNCER PAPILAR DE TIROIDES (Expression and localization of chemokines receptors in papillary thyroid carcinoma) **Tobar, H.**[1,3], Leiva, A.[1], Böhmwald K[3], González, H.[1,2], Riedel, C.[3], Kalergis, A.[1,2]. [1]Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile. [3]Universidad Andres Bello. akalergis@bio.puc.cl

Objetivo. Se ha demostrado la participación de los receptores de quimioquinas en el proceso de metástasis del cáncer. Nuestro objetivo es analizar la expresión de receptores de quimioquinas en el cáncer papilar de tiroides y evaluar el rol de estas moléculas en la metástasis al tejido linfático.
Metodología. Se obtuvieron muestras de tiroides de pacientes con cáncer papilar. El control utilizado fue tejido normal del tiroides del mismo paciente. La expresión del mRNA de los receptores de quimioquinas se analizó por RT–PCR semicuantitativo. La expresión de la proteína de los receptores de quimioquinas se analizó por citometría de flujo. La localización de los receptores de quimioquinas se realizó por inmunohistoquímica.
Resultados. El análisis de la expresión del mRNA por RT–PCR semicuantitativo indicó expresión de CXCR4, CCR5 y CCR10. El análisis de la expresión por citometría de flujo mostró mayor expresión del receptor CCR3. Por inmunohistoquímica se observó mayor expresión de los receptores CXCR4, CCR3 y CCR7. Éste último receptor sólo fue detectado en tejidos tumorales que presentan metástasis linfáticas.
Conclusiones. Nuestros resultados indican que existe expresión diferencial de los receptores de quimioquinas en el cáncer papilar de tiroides. La expresión del receptor CCR7 se correlacionó con la capacidad de las células del cáncer papilar para generar metástasis linfática. Basados en estos resultados sugerimos que CCR7 podría estar implicado en el proceso de metástasis del cáncer papilar de tiroides a tejidos linfáticos.
Financiamiento: Fondecyt 1070352 y 1040349 e ICM.

(108) CARACTERIZACIÓN DE LA VÍA INTRACELULAR DEL RECEPTOR TIPO TOLL 2 (TLR2) ACTIVADA POR LIPOPÉPTIDOS Y GLUCOCORTICOIDES (Characterization of the Toll-like receptor 2 (TLR2) intracellular pathway induced by lipopeptides and glucocorticoids) **Rodrigo Valenzuela**[1], Caroll Beltrán[1,2], Enzo Candia[1], Sergio Arancibia[1], Marcela A. Hermoso[1]. [1]Prog. de Inmunologia, ICBM, Fac. de Medicina, [2]DIC, Hosp. Clínico, U. de Chile.

Objetivos: Anteriormente nuestro equipo de investigación reportó que los glucocorticoides potencian el aumento de la trascripción de TLR2 inducido por la citoquina pro-inflamatoria TNFα; efecto que involucra un aumento en la expresión de la fosfatasa MKP1, que desfosforila a p38. Este trabajo evaluó la expresión de TLR2 en macrófagos y células epiteliales y el papel de p38, como un posible mecanismo que subyace la respuesta a agonistas de TLR2 (*Pam_3Cys-Ser-Lys_4*) y el glucocorticoide Dexametasona**.**
Metodología: Utilizamos líneas celulares de macrófagos y epitelio pulmonar tratadas con *Pam_3Cys-Ser-Lys_4* en presencia o ausencia de Dexametasona. Evaluamos la expresión de TLR2 mediante citometría de flujo, fosforilación de p38 como indicador de actividad enzimática mediante inmunoblot y activación transcripcional de AP-1 como evento río abajo de p38.
Resultados: *Pam_3Cys-Ser-Lys_4* aumentó la expresión de TLR2 en la superficie de ambos tipos celulares, efecto potenciado por Dexametasona. Así también, *Pam_3Cys-Ser-Lys_4* indujo la fosforilación temprana de p38, la cual no es afectada por el glucocorticoide. Sin embargo, Dexametasona revirtió el aumento de la actividad transcripcional de AP-1 inducida por activación del TLR2.
Conclusiones: Los glucocorticoides potencian el aumento de la expresión de TLR2 inducida por ligandos bacterianos a nivel de membrana, facilitando su reconocimiento. La activación de la vía de la p38 y AP-1 por agonistas del receptor en presencia de glucocorticoides podría constituir un mecanismo alternativo de regulación de la expresión de TLR2. FONDECYT 1050541

(109) RELEVANCIA DE REGIÓN AMINO-TERMINAL DEL DOMINIO CITOPLASMÁTICO DEL RECEPTOR DE GLICINA EN LA UNIÓN A Gβγ (Relevance of the amino-terminal part of the glycine receptor cytoplasmic domain in the binding with Gβγ) **Avila, A.**, Guzmán, G., Fuentealba, J., Opazo, C., Aguayo, L. Lab. de Neurofisiología, Depto. de Fisiología, Facultad de Cs. Biológicas, U. de Concepción, Chile. jguzman@udec.cl

Objetivos: El Receptor de Glicina (RGli) es un canal inhibitorio miembro de la superfamilia de canales iónicos activados por ligando. Este y otros receptores son regulados por el heterodímero Gβγ. Se evaluará la unión de Gβγ a distintos segmentos del dominio citoplasmático de RGli y la interferencia de un péptido de esta región en la unión de Gβγ a otras proteínas.
Metodología: La unión de Gβγ a distintas proteinas fue determinada usando la técnica de GST pull down. Para esto se expresaron el dominio citoplasmático de RGli, distintos fragmentos de este (versiones silvestres y mutantes) y el dominio C-terminal de GIRK y βARK como fusión a la proteína GST. Para evaluar lo anterior se efectuaron ensayos de Western Blot contra las proteínas Gβ y GST.
Resultados: El dominio citoplasmático de las subunidades α1, 2, 3 y 4 de RGli son capaces de unirse directamente a Gβγ. Mutaciones en este dominio alteran la unión a Gβγ. Un péptido proveniente de esta región interfiere con la unión de Gβγ a otras proteínas: C-terminal de GIRK y C-terminal de βARK.
Conclusiones: Se demostró la existencia de interacción directa de Gβγ a las distintas subunidades de RGli. Para la subunidad α1, se hallaron los determinantes moleculares de esta unión. La región de Gβγ que interacciona con RGli es similar a la que interacciona con GIRK y βARK.
Financiamiento: Proyecto NIH ROIAA 15150-01, Proyecto Bicentenario Nº7.

(110) INDUCCIÓN DE LA PLASTICIDAD ESTRUCTURAL EN NEURONAS ESPINALES E HIPPOCAMPALES DEPENDE DE LA COMPOSICIÓN DE LAS SUBUNIDADES DEL RECEPTOR DE NMDA (Induction of structural plasticity in spinal and hippocampal neurons depends on the NMDA receptor subunit composition) **Fernando Bustos**[1], Manuel Lagos[1], Fernando Sepúlveda[1], Carlos Opazo[2], Luis Aguayo[2], Martin Montecino[3] y Brigitte van Zundert[1]. [1]Dept Physiopathology, [2]Dept Physiosiology, [3]Dept Biochem. and Mol. Biol. Faculty of Biological sciences, University of Concepción. bvanzund@udec.cl

Objectives. During development, at the same time that functional and structural plasticity diminish, the synaptic NMDA receptor (NMDAR) subunit composition is changed from NR1NR2B to NR1NR2A. Because neurons express NR1NR2ANR2B tri-heteromers the precise molecular mechanisms of how these different subunits regulate structural plasticity can not be established.
Methods. To unmask the specific relationship between the NMDAR subunits and structural plasticity we have used ventral spinal cord neurons (VSCNs), in which the expression of the NR2A and NR2B subunits, but not NR1, is completely suppressed. To complement the overexpression experiments in VSCNs, we turned to plasmid-based RNA interference (RNAi) to knock-down the expression of NR2A or NR2B in cultured hippocampal neurons (Kim et al., Neuron, 2005).
Results. Using electrophysiological and immunocytochemical analyses we demonstrate that overexpression of either NR2A or NR2B in VSCNs results in functional synaptic NR1NR2A and NR1NR2B receptors, respectively. Importantly, we show that overexpression of the NR2B subunit, but not NR2A, significantly increased dendritic outgrowth and branching in VSCNs. In addition, we found that overexpression of RNAi-NR2B, but not RNAi-NR2A, drastically decreased structural plasticity in hippocampal neurons.
Conclusions. Together, these results show for the first time that induction of structural plasticity depends on the NMDAR subunit composition.
Funded by Fundación Andes N° C-14060/25, DIUC 206.034.009-1.0 and Fondecyt 1070494.

(111) CARACTERIZACIÓN DE LAS DPSs DE LAS NEURONAS DEL TELENCÉFALO DE RATAS HIPOTIROIDEAS (Characterization of PSDs from neurons of hypothyroids rats) **Cortes C**[1]., Ibarra P[1], Pino C[1], Perez de Arce K[2], Alvarez A[2], Eugenin E[3], Aliaga E[4], Riedel C[1]. [1]U. Andrés Bello. [2]Universidad Católica, [3]Albert Einstein College of Medicine, [4]U. de Valparaíso.

Objetivos: Hemos detectado cambios funcionales del receptor de NMDA proveniente de las densidades postsinápticas (DPS) del telencéfalo de ratas hipotiroideas. Nuestro objetivo es caracterizar la DPS, la composición del receptor de NMDA en la DPS y la viabilidad neuronal.
Metodología: El telencéfalo se fraccionó y se obtuvo homogenizados totales, sinaptosomas 2 (S2) y DPS. A partir del homogenizado y de las DPS se analizó la composición de las subunidades NR1 y NR2A/B. A partir de los S2 se inmunoprecipitó la subununidad NR2A/B y se analizó por Western blot la co-inmunoprecipitacción de NR1. Las DPS fueron analizadas por microscopia electrónica. Mediante tunel se analizó apoptosis neuronal y se determinó la cantidad del neuropéptido BDNF.
Resultados: Análisis por Western blot mostró disminución de NR1 y NR2A/B y aumento significativo de éstas subunidades en el homogenizado total. Se observó una reducción de un 60% en la cantidad de NR1 que coinmunoprecipita con NR2A/B. Se observó disminución en el tamaño de la DPS por microscopia electrónica; por tunel aumento de apoptosis; y aumento en la cantidad de BDNF.
Conclusiones: El hipotiroidismo altera la composición de las proteínas que conforman la DPS, reduce el tamaño de ésta y aumentan la apoptosis de neuronas en el teléncefalo. Estos resultados contrastan con el drástico aumento de BDNF. La disminución de NR1 acoplada a NR2A/B podría explicar el cambio en la actividad del receptor de NMDA.

(112) EFECTOS DEL PEPTIDO SOLUBLE $A\beta_{1-40}$ SOBRE CULTIVOS DE NEURONAS HIPOCAMPALES (Effects of soluble peptide $A\beta_{1-40}$ in hippocampal cultured neurons) **Cuevas M.E.**[1], Muñoz G.[2], Haensgen H.[1], Sepúlveda F.[1], Parodi J.[1], Opazo C.[2], Aguayo L.G.[1]. [1]Lab. de Neurofisiol., [2]Lab. de Neurobiometales, Depto. de Fisiol., Fac. de Cs. Biol., U. de Concepción. mcuevas@udec.cl

Objetivo: Últimamente han aparecido una serie de reportes que muestran que el péptido Aβ es normalmente producido por células en cultivo, otorgándole un carácter fisiológico a este evento. De acuerdo a estos antecedentes nos propusimos evaluar el efecto de la forma soluble del péptido $A\beta_{1-40}$ en la morfología y función de neuronas de hipocampo de rata en cultivo**.**
Metodología: Cultivos de neuronas de hipocampo de rata de 8 DIV, fueron incubados con 500 nM del péptido soluble por 3 días. Posteriormente, se evaluó su actividad sináptica, frecuencia de transitorias de calcio intracelular, immunoreactividad para proteínas de citoesqueleto y sinápticas. Para tal efecto se utilizaron las técnicas de Patch Clamp, Fluorometría de calcio intracelular, Immunofluoresecencia y ensayos de Western Blot, respectivamente.
Resultados: El análisis electrofisiológico muestra que existe un aumento significativo en la frecuencia de las corrientes en miniatura (1,2±0,4 Hz, control, 6,4±1,5 Hz, tratadas, $p \leq 0,05$), con un incremento significativo en el número de eventos sinápticos glutamatérgicos (0,73±0,2 Hz, control, 4,4±0,9 Hz, tratadas, $p \leq 0,05$), lo que está en relación con un aumento en la frecuencia de transitorias de calcio (0,06±0,004 Hz, control 0,08±0,004 Hz, tratado, $p \leq 0,05$). Adicionalmente, se observa que la inmunoreactividad para la proteína presináptica SV2, MAP 2 y GluR1, también está aumentada.
Conclusiones: Basados en estos antecedentes sugerimos que concentraciones nanomolares de la forma soluble de $A\beta_{1-40}$ inducen remodelamiento sináptico en neuronas de hipocampo de rata.
Financiamiento**.** M.C. es becaria CONICYT. Fondecyt 1020475, 1060358 y Proyecto Anillo-PBCT ACT-04.

(113) EL FACTOR PRO-APOPTÓTICO BIM MEDIA LA PÉRDIDA DE MOTONEURONAS EN UN MODELO TRANSGÉNICO DE ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA (The proapoptotic BCL-2 family member BIM, mediates motoneuron loss in a model of amyotrophic lateral sclerosis) **S. Matus**[1], S. Korsmeyer[2], L. Glimcher[3] and C. Hetz[1,2,3]. [1]Instituto de Ciencias Biomédicas, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile, Chile; [2]Howard Hughes Medical Institute, Dana–Farber Cancer Institute, USA; [3]Department of Immunology and Infectious Diseases, Harvard School of Public Health, Boston, USA. chetz@med.uchile.cl (Patrocinio: C. Metz).

Objetivos: El desarrollo de la variante familiar la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELAf), es una enfermedad que afecta a las motoneuronas, produciendo atrofia muscular. Mutaciones en el gen de la superóxido dismutasa-1 (SOD-1) gatillan ELAf producto de desestabilización su estructura, promoviendo una agregación anormal con propiedades neurotoxicas. En este trabajo estudiamos la participación de reguladores pro-apoptóticos pertenecientes a la familia de proteínas BCL-2, en la muerte celular en modelos celulares y animales de ELAf.
Metodología: Como modelo de estudio de ELAf utilizamos motoneuronas transfectadas y ratones transgénicos que expresan mutantes de SOD-1 humana. Luego comparamos el efecto neurotóxico de las mutantes de SOD1 en células y ratones deficientes para la expresión de la proteína pro-apoptótica BIM.
Resultados y Conclusiones: Realizamos un estudio sistemático de los niveles de expresión de diferentes factores pro-apoptóticos de la familia BCL-2, y encontramos un aumento significativo de BIM in en ratones transgénicos para SODl mutante. Estudios *in vitro* utilizando RNA de interferencia y experimentación en ratones deficientes para BIM demostraron que BIM media la apoptosis inducida por la expresión de SOD1 mutante. Así mismo, los animales deficientes para BIM presentaron un aumento significativo en el tiempo de incubación de la enfermedad y sobrevida media. (Financiado por Fondecyt #1070444 y High Q Foundation).

(114) REGULACIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN: UNA POSIBLE NUEVA FUNCIÓN PARA MAP (Neurotransmission regulation: a possible new function for MAP1B) **Carolina Montenegro V**[1], Carlos Rozas[2], Mariano Bisbal[3], Bernardo Morales[2], Alfredo Cáceres[3] y Christian González-Billault[1]. (1)Lab. de Neurociencias, Facultad de Ciencias, U. de Chile (2)Fac. de Cs., U. de Santiago (3) Inst-ç. Mercedes y Martín Ferreyra, Córdoba, Argentina. chrgonza@uchile.cl - carolamontenegrovenegas@yahoo.com

Objetivos: La proteína MAP1B interacciona con el citoesqueleto de actina. Nuestra hipótesis plantea el ensamblaje de complejos multiproteicos en distintos estadios de desarrollo que vinculen la función MAP1B con el control de procesos relevantes para la fisiología de las neuronas.
Metodología Se evaluó la importancia de MAP1B para la dinámica de actina en cultivos de neuronas de hipocampo. Para determinar posibles nuevas proteínas que interaccionen específicamente con MAP1B en cerebro utilizamos la técnica del doble híbrido contra una genoteca de cerebro de ratón adulto. Los ensayos de LTP se realizaron en rebanadas de hipocampo de ratones control y heterocigotos para MAP1B.
Resultados: La dinámica de actina esta alterada en las neuronas deficientes en MAP1B. Por doble híbrido encontramos 21 clones, de los cuales los clones 3 y 24, representan proteínas cuyo patrón de expresión es consistente con la expresión en adulto de MAP1B y poseen una función que puede controlar procesos de sinapsis. Los estudios de LTP en rebanadas de hipocampo muestran un LTP alterado para los animales MAP1B+/- en comparación con los WT.
Conclusiones: MAP1B puede regular la dinámica de actina y actividad sináptica a través de dos posibles mecanismos, actualmente en estudio.
Financiado Fondecyt 1060040, ICGEB CRP CHI06-01, ICM P05-001-F

(115) GALECTINA-8 PROMUEVE SOBREVIDA Y PROTEGE A LAS NEURONAS FRENTE A ESTÍMULOS APOPTÓTICOS (Galectin-8 promotes survival and protects neurons against apoptotic stimulus) **Evelyn Pardo**[1,2], Andrea Soza[1,2], Juan Godoy[2], Nibaldo C. Inestrosa[2], Alfonso González[1,2]. [1]Depto. Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad Medicina. [2]Centro FONDAP Regulación Celular y Patología "Joaquín Luco" (CRCP). Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile y MIFAB. epardo@uc.cl

Objetivos: Galectina-8 (Gal-8) es una lectina que reconoce específicamente secuencias de N-acetillactosaminas, interactúa principalmente con integrinas e induce adhesión celular, migración y apoptosis en diversas líneas celulares. Aquí estudiamos sus efectos en la sobrevida y protección neuronal frente a diversos inductores apoptóticos.
Metodología: Como modelo de estudio utilizamos cultivo de neuronas hipocampales embrionarias (E18) de ratas Sprague Dawley y Gal-8 purificada desde un sistema de expresión bacteriano.
Resultados: La Gal-8 en forma soluble mejoró la viabilidad de las neuronas hipocampales y su sobrevida frente a inductores apoptóticos tales como estrés oxidativo, excitotocicidad, agregados proteicos y deficiencia de factores de crecimiento. También indujo influjos de calcio desde el medio extracelular, activación de las vías de señalización MAPK-ERK1/2 y PI3K-Akt y acumulación de β-catenina en el citoplasma y el núcleo. Inhibidores de PKC, MEK y PI3K disminuyeron el efecto antiapoptótico.
Conclusiones: La Gal-8 estimula mecanismos antiapoptóticos involucrando PKC, PI3K/Akt y GSK-3β podría contribuir a los mecanismos de sobrevida y protección neuronal comúnmente alterados en los desórdenes neurodegenerativos. (FONDECYT #1050715, FONDAP #13980001 y MIFAB).

(116) EL ESTRÉS OXIDATIVO MODIFICA LA DISTRIBUCIÓN SUBCELULAR DEL EXON III DE BDNF EN NEURONAS HIPOCAMPALES EN CULTIVO (Oxidative stress modifies subcellular distribution of exon III BDNF in hippocampal cultured cells) **Marilyn Paz**[1], Ana Abbott[2], Edra Jiménez[2], Fernanda Caviares[3] y Esteban Aliaga[2]. [1]Depto. Biología, Facultad de Cs., U. de Valparaíso. [2]Centro de Neurobiol. y Plasticidad del Desarrollo, Depto. de Fisiol., Fac. de Cs., U. de Valparaíso. [3]Fac. de Farmacia, U. de Valparaíso. esteban.aliaga@uv.cl (Patrocinio: C. Riedel)

Objetivos: El gen del factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) origina 4 transcritos diferenciados en regiones no traducidas que codifican un único péptido. Para estudiar el papel fisiológico de los diferentes transcritos hemos analizado el efecto del estrés oxidativo en la localización subcelular de los transcritos I-IV de BDNF en neuronas de hipocampo en cultivo**.**
Metodología: Las neuronas hipocampales embrionarias (E18) de rata fueron tratadas al día 7 *in vitro*, con H_2O_2 (0,1 y 10 μM) durante 30 min (condiciones no tóxicas). La expresión de los transcritos de BDNF se analizó mediante hibridación *in situ* (HIS) no-radioactiva, utilizando sondas exon-específicas.
Resultados: Los exones I y II presentaron localización somática, el exon IV somatodendrítica y el exon III perinuclear. El tratamiento con H_2O_2 (0,1 o 10 μM) produjo una pequeña pero estadísticamente significativa reducción en la expresión de los exones I y III, sin afectar al exon II. Ambos tratamientos produjeron un notorio cambio en la distribución de marca de HIS para el exon III, pasando de una distribución perinuclear homogénea a una distribución granular (0,1 μM H_2O_2) o somática (10 μM H_2O_2). Al mismo tiempo el contenido de péptido BDNF por célula disminuyó a un 71,1± 9,3 % del control a 10 μM H_2O_2.
Conclusiones: El estrés oxidativo provoca una reducción del contenido celular del péptido BDNF al mismo tiempo que parece movilizar el transcrito III, lo que podría ser un mecanismo destinado a reabastecer los almacenes intracelulares.
Financiamiento: DIPUV-15-2006, Centro DIPUV-1-2006.

(117) EL TRANSPORTE INTRACELULAR DEL RECEPTOR $GABA_B$ ES REGULADO POR MARLIN-1 Y KINESINA I (The intracellular transport of $GABA_B$Rs is regulated by Marlin-1 and kinesin I) **Vidal, R.** ‡§, Morales, C. §, Valenzuela, J.I. § y Couve, A.§. §Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ‡Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. renevidalg@gmail.com

Conclusiones: En neuronas el citoesqueleto y los motores moleculares juegan un rol fundamental en el tráfico de receptores y proteínas sinápticas. Además existen proteínas adaptadoras que unen motores citoesqueléticos y cargo. Se han descrito proteínas adaptadoras implicadas en el tráfico de receptores NMDA, AMPA, glicina y $GABA_A$. Para el receptor $GABA_B$ ($GABA_BR$) las propiedades de estos complejos son poco conocidas. Marlin-1 es una proteína asociada al $GABA_BR$ y microtúbulos. El presente trabajo tiene como objetivo explorar el complejo proteico motor que participa en el transporte del $GABA_BR$.
Metodología: Mediante microscopía confocal se realizaron estudios de distribución subcelular y recuperación de fluorescencia luego del fotoblanqueamiento, en cultivos primarios de neuronas hipocampales. A partir de cerebro de rata se caracterizaron las interacciones proteicas mediante ensayos bioquímicos.
Resultados: Marlin-1 es móvil en neuronas y su dinámica depende de microtúbulos. $GABA_BR1$ es móvil en dendritas. Marlin-1 y $GABA_BR1$ interactúan con kinesina I. La distribución subcelular de $GABA_BR1$ es modificada por kinesina I.
Conclusiones: Marlin-1 y $GABA_BR$ presentan una fracción móvil en neuronas. El transporte intracelular de las subunidades del $GABA_BR$ hacia los sitios de ensamblaje en dendritas y axones estaría regulado por un complejo multiproteico formado al menos por Marlin-1, kinesina I y tubulina. Este trabajo constituye la primera evidencia respecto a la regulación del transporte del $GABA_BR$ en neuronas.
Financiamiento: FONDECYT 1071001, ICM-P04-068-F.

(118) EL DOMINIO CITOPLASMÁTICO DE xSINDECÁN 4 PARTICIPA EN LA REGULACIÓN DE LA VÍA WNT NO-CANÓNICA (The cytoplasmic domain of xSyndecan4 regulates the non-canonical Wnt pathway) **Loreto Carvallo.** Rosana Muñoz y Juan Larraín. FONDAP Biomedicina. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. lcarvallo@bio.puc.cl

Objetivos: La vía de señalización Wnt no canónica o independiente de β-catenina regula los movimientos de extensión y convergencia (EC) en embriones vertebrados y la polaridad celular en el plano (PCP). La vía PCP se manifiesta por la capacidad de cientos de células de adquirir la misma polaridad en un epitelio o en cómo las células del mesodermo dorsal establecen una polarización uniforme durante la EC. En esta vía participan las proteínas Frizzled (Fz), Dishevelled (Dsh), Strabismus (Stbm), Prickle (Pck), Diego (Dgo) y Flamingo (Fmi). Recientemente en nuestro laboratorio hemos demostrado que xSindecán 4 (xSin4), un proteoglicán de heparán sulfato de transmembrana, regula la actividad de la vía Wnt no canónica, así como el proceso de EC durante el desarrollo temprano de *Xenopus laevis*.
Metodología: En este trabajo hemos utilizado metodologías de GST-pulldown e inmunoprecipitaciones de proteínas en células HEK293T para evaluar la interacción de xSin4 con componentes de la vía PCP.
Resultados: Observamos que xFz7 y xDsh interactúan con xSin4 a través de su dominio citoplasmático. Dentro de este dominio se localiza un dominio PBD (PDZ binding domain) que sería necesario, sin embargo, no suficiente para tal unión. Dicha interacción se muestra disminuida cuando el dominio citoplasmático del extremo C-terminal de xFz7 es fosforilado.
Conclusiones: xDsh y xFz7 interactúan con xSin4 mediado por su dominio citoplasmático, donde el dominio PBD seria necesario para tal unión.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt Postdoctorado 3070015.

(119) EFECTO INDIRECTO DEL GEN MATERNO *BUCKY BALL* EN LA ORGANIZACIÓN DEL CITOESQUELETO DURANTE LA SEGREGACIÓN OVOPLÁSMICA EN EL ZIGOTO DEL PEZ CEBRA (Indirect effect of the maternal gen *bucky ball* in the organization of the cytoskeleton during ooplasmic segregation in the zebrafish zigote) **Luis Ricardo Fuentes**, Rodrigo Álvarez y Juan Fernández. Fac. de Ciencias. U. de Chile. ricfuentes@gmail.com

Objetivos: Los procesos tempranos del desarrollo son regulados por genes maternos. Interesa explorar la manera como la mutación de un gen de polaridad animal/vegetal afecta la organización del citoesqueleto y la segregación ovoplásmica**.**
Metodología: Mutantes del gen *bucky ball* fueron obtenidos mediante el cruce de hembras homocigotas para la mutación con machos silvestres. Estos fueron microinyectados con dextrano fluorescente o fijados con formaldehído-ácido acético y observados mediante video microscopía de tiempo interrumpido. El citoesqueleto se estudió por inmunofluorescencia.
Resultados: Durante el desarrollo temprano del zigoto mutante no se observan cambios importantes en la organización del ovoplasma y citoesqueleto. Sin embargo, al inicio del flujo masivo de citoplasma hacia el polo animal los canales de transporte de ovoplasma ("streamers") y el citoesqueleto se organizan radialmente en vez de axialmente, provocando la acumulación de ovoplasma en varios sitios periféricos (pseudo-blastodiscos) que pueden formar voluminosos "blebs". Los canales radiales se extienden centrífugamente desde un foco central de ovoplasma (cuerpo fenestrado) ausente en el zigoto silvestre. Así, el flujo bidireccional de ovoplasma en el zigoto silvestre se transforma en flujo multidireccional en el mutante.
Conclusiones: Las alteraciones observadas en la organización del citoesqueleto y en la dirección del flujo ovoplásmico permiten inferir que el producto del gen *bucky ball* participa indirectamente en la regulación de la organización y funcionamiento del citoesqueleto durante la segregación ovoplásmica.
(Fondecyt 1030879)

(120) COMPARACIÓN DE PERFILES TEMPORALES DE EXPRESIÓN GÉNICA ENTRE ESPECIES DEL GÉNERO *Drosophila* (Comparison of temporal gene expression profiles among *Drosophila* species) **Christian Hödar,** Angélica Guajardo, Patricia Hanna, Verónica Cambiazo. Lab. de Bioinformática y Expresión Génica, INTA – U. de Chile & Center for Genomics of the Cell (CGC). chodar@inta.cl

Objetivo. Monitorear cambios de expresión en el desarrollo temprano en especies filogenéticamente relacionadas del género *Drosophila*, usando *microarrays* con secuencias de *D. melanogaster,* y determinar si las variaciones de los perfiles de expresión génica se explican por las diferencias de las regiones reguladoras de los genes.
Metodología: Anotación de genomas mediante herramientas bioinformáticas. Obtención de datos de expresión mediante ensayos de hibridación en *microarrays* de cDNA y análisis estadísticos para comparar perfiles de expresión génica entre especies. Verificaciones experimentales de los perfiles de expresión de genes de interés mediante hibridaciones *in situ* y PCRs cuantitativos. *Footprinting* filogenético de las regiones reguladoras en *cis* de algunos genes e identificación de sitios de unión para factores de transcripción.
Resultados: Se recuperó un grupo de 100 genes que presentan cambios de expresión significativos en las especies estudiadas. Determinamos que la variación en los perfiles temporales de expresión de algunos grupos de genes esta limitada por las restricciones filogenéticas que operan durante la historia del grupo. En genes seleccionados, identificamos una correlación entre la restricción filogenética del perfil de expresión y las diferencias estructurales de sus regiones reguladoras.
Conclusiones. En conjunto, la información generada sirve de base para estudios que permiten determinar si las diferencias morfológicas observadas entre especies pueden explicarse a través de la evolución de las redes de interacción génica tempranamente instauradas durante el desarrollo.
Fondecyt 1050235

(121) IDENTIFICACIÓN DE REGIONES REGULATORIAS DEL GEN *dlg* DE *Drosophila* (Identification of regulatory regions of the *Drosophila dlg* gene) **Pablo Majóo** y Jimena Sierralta. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y CENI-ICM.

Objetivos El gen *dlg*, identificado como supresor de tumores en *Drosophila melanogaster* cumple un rol fundamental en células epiteliales y neuronales. En epitelio mantiene la polaridad ápico-basal y controla la proliferación, y en la sinapsis regula la estructura del botón sináptico durante el desarrollo.
A partir de este gen se transcriben al menos cinco variantes diferentes, algunas de ellas no expresadas en epitelio. Nuestro objetivo es identificar secuencias regulatorias en el gen que determinan la expresión del gen *dlg* en células epiteliales y/o neuronales**.**
Metodología: Se amplificó por PCR posibles secuencias regulatorias intrónicas de *dlg* en dos regiones (ATGS97 y ATGA) y se clonaron en el vector Stinger para inyectarlas en embriones tempranos de *Drosophila*. En moscas transgénicas para el elemento P se estudió por inmunofluorescencia la distribución de GFP en todos los estadios, gracias a que el vector tiene el gen que codifica para la proteína GFP nuclear.
Resultados: Las dos regiones del gen escogidas dirigen la expresión de *dlg* en células neuronales, la zona río arriba del ATG de la variante no epitelial (ATGS97) dirige la expresión del reportero en un patrón discreto en subgrupos del cerebro central y del cordón ventral posterior. La secuencia río abajo (ATGA) dirige la expresión del reportero en un patrón amplio distribuido en el cerebro y cordón ventral pero no en neuroblastos.
Conclusión: Identificamos zonas que dirigen la expresión de variantes neuronales del gen *dlg*, actualmente estamos acotando estas zonas y caracterizando los grupos neuronales que comprenden el patrón de expresión.

(122) GENES REGULADOS POR LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE Shh/Gli, INVOLUCRADOS EN PROCESOS DE CRECIMIENTO CELULAR (*neogenina 1*) Y AUTOFAGIA (*atg5*) (Shh/Gli pathway regulated genes, involved in cell growth [*neogenin 1*] and autophagy [*atg5*]) **Luis A. Milla,** Miguel L. Allende y Verónica Palma. Center for Genomics of the Cell y Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Objetivo
Mediante estudios de genómica funcional en pez cebra, anteriormente hemos encontrado nuevos genes regulados por la vía de señalización Shh/Gli. En el presente trabajo, se amplía esa búsqueda al modelo ratón, y se analiza el tipo de relación con Shh, para los genes candidatos *neogenina 1* y *atg5*.
Metodologías Se realizaron ensayos de monohíbrido-inverso e inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) , combinados con análisis *in silico*, para aislar secuencias de unión a Gli. Se verificó la dependencia ante Shh de estos genes mediante ensayos funcionales basados en análisis de RNA, y ChIP.
Resultados: Se encontraron sitios putativos de unión consenso para Gli (CACCCA) a través del genoma de ratón en un rango de 20 kilobases río arriba del sitio de inicio de la traducción de ambos genes. Se verificó la unión de Gli1 en algunos de estos sitios para regiones reguladoras de los genes *neogenina 1* y *atg5*. Actualmente realizamos ensayos funcionales utilizando como modelo de autofagia cuerpos embrionarios (embryonic bodies), obtenidos a partir de células troncales embrionarias de ratón.
Conclusión: Esta es la primera evidencia que *neogenina 1* y *atg5*, son regulados por la vía de señalización de Shh/Gli, de manera directa. Se contextualiza este hallazgo con las funciones conocidas de Shh en el desarrollo embrionario.

(123) LA LÍNEA LATERAL DEL PEZ CEBRA, UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE MUERTE Y REGENERACIÓN DE CÉLULAS CILIADAS (Zebrafish lateral line as a model for studying hair cell death and regeneration) **Francisco Olivari**, Pedro Hernández y Miguel Allende. CGC, Facultad de ciencias, Universidad de Chile. allende@uchile.cl

Objetivo La línea lateral del pez cebra es un sistema sensorial donde existe regeneración de células ciliadas y es similar al oído de mamíferos. Organos funcionales del sistema proveen un modelo experimental para estudiar toxicidad y regeneración. Este trabajo caracteriza estos procesos en larvas. Se utilizó $CuSO_4$ disuelto como agente tóxico y se analizaron vías de muerte celular. Se introdujeron líneas transgénicas para estudiar regeneración, proliferación, y función de células que expresan el marcador troncal neural Sox2**.**
Metodología: Se estudiaron vías de muerte en células ciliadas mediante morfología (MET y microscopía confocal). Se estudió fragmentación del DNA (TUNEL) y se evaluó otoprotección con Amilorida y antioxidantes.
La regeneración se estudió usando incorporación de BrdU e inmunofluorescencia para detectar proliferación y Sox2, visualizando las marcas junto al GFP expresado en líneas transgénicas.
Resultados: Cobre concentrado favorece necrosis en las células ciliadas, concentraciones menores generan varios fenotipos morfológicos, distinguiendo uno de apoptosis. Otoprotección con el bloqueador de canales Amilorida y antioxidantes sugieren penetración del cobre y producción de ROS.
Nuevas células ciliadas aparecen por procesos dependientes e independientes de proliferación, residente en células accesorias que expresan Sox2, posibles precursores de células ciliadas.
Conclusiones: Utilizando toxicidad por cobre y líneas transgénicas, se obtuvo un modelo para estudiar muerte y regeneración en la línea lateral del pez cebra. Similar al oído de mamíferos, la proliferación reside en células accesorias que expresan Sox2 candidatas como precursores de células ciliadas.

(124) LA VÍA WNT/β-CATENINA ESTÁ INVOLUCRADA EN EL DESARROLLO DE LA LÍNEA LATERAL DEL PEZ CEBRA (Wnt/β-catenin pathway is envolved in lateral line development in zebrafish) **Leonardo Valdivia**, Eduardo Villablanca, Rodrigo Young, Miguel Allende. CGC, Facultad de ciencias, Universidad de Chile. allende@uchile.cl

Objetivo La vía Wnt participa en diversos procesos del desarrollo como *patterning*, diferenciación y especificación celular. Para activar la transcripción la señal se transmite por translocación de β-catenina al núcleo de la célula donde forma un complejo con factores de transcripción del tipo Lef/Tcf. La expresión de gen *tcf4* en pez cebra se ha descrito en el cerebro anterior, diencéfalo, y cerebro medio anterior. En este trabajo se extendió el análisis de su expresión y función a la línea lateral, un sistema mecanosensorial de algunos vertebrados acuáticos que se compone de varios órganos sensoriales llamados neuromastos que son depositados en el cuerpo del animal a intervalos regulares por un primordio migratorio de células**.**
Metodología: La expresión de *tcf4* se detectó por hibridación *in situ*. Para el análisis funcional se microinyectó un morfolino contra *tcf4* (Mo-tcf4) en huevos fecundados. En estos experimentos se usó peces *wild type* y dos líneas transgénicas que expresan GFP en primordio y neuromastos de la línea lateral. Además se utilizó un anticuerpo contra β-catenina para inmunodetección.
Resultados: *tcf4* se expresa en los neuromastos en desarrollo. Al hacer experimentos de pérdida de función, usando Mo-tcf4, se impide el depósito de estas estructuras sensoriales, aunque el primordio migra normalmente. Además se encontró, mediante inmunohistoquímica, que β-catenina se expresa en los neuromastos.
Conclusiones: En este trabajo se muestran las primeras evidencias funcionales de que la vía Wnt/ β-catenina está activa en la línea lateral, y cumpliría una función en el correcto depósito y/o diferenciación de los neuromastos.

(125) EXPRESIÓN COMPARATIVA DE PEPCK Y FBPasa EN HÍGADO Y PÁNCREAS DE RATAS EN DESARROLLO (Comparative expression of PEPCK and FBPase in liver and pancreas during rat development) **Zahady Velásquez**, Romina Bertinat, Diego Morales, Juan Pablo Pontigo, Joaquín Vivar, Alejandro Yánez y Juan Carlos Slebe. Laboratorio de Enzimología, Universidad Austral de Chile. zahady@gmail.com

Objetivos: Determinar los cambios en la expresión y actividad de las enzimas gluconeogénicas FBPasa y PEPCK en hígado y páncreas de rata en desarrollo**.**
Metodología: Se utilizaron órganos de ratas desde 1 hasta 35 días de vida (triplicado). Hígado y páncreas fueron utilizados para extraer RNA total, proteínas y realizar cortes histológicos. Luego se efectuaron análisis de RT-PCR, Western blot y medición de actividad enzimática de FBPasa y PEPCK.
Resultados: La inmunodetección de PEPCK en páncreas fue a partir del día 15 en páncreas y desde el día 1 en hígado. FBPasa no fue detectada en páncreas, probablemente debido a la poca representación de ésta en el tejido. La actividad de PEPCK presentó un aumento en el día 10, disminuyendo posteriormente a 3 mU/mg en hígado y páncreas. Además, FBPasa presenta un máximo a los 5 días y luego cae hasta 30 mU/mg en hígado. En páncreas el valor máximo es de 45 mU/mg a los 20 días y luego se mantiene a 20 mU/mg.
Conclusiones: La actividad de PEPCK y FBPasa en hígado y páncreas de rata fue detectada a partir del primer día de vida a niveles superiores a los de una rata adulta, aún cuando la cantidad de enzima se mantiene constante. Esto indica que existiría una modulación en su actividad dependiente del estado de desarrollo que no altera la expresión su mensajero o proteína.
FONDECYT 1051122, 1051057; PBCT/CONICYT IPA 005

(126) ÍNDICES DE ESCALAMIENTO EN COMBINACIÓN CON ALGORITMOS DE DESPLAZAMIENTO CUANTIFICAN LA COLOCALIZACIÓN DE ESTRUCTURAS SUBCELULARES MEDIANTE MICROSCOPÍA DE FLUORESCENCIA (Scaling indices in combination with defined displacement algorithms quantify colocalization of subcellular structures in fluorescence microscopy) **Härtel S**[1], Ramirez O[1], Couve A[1], Espinosa M[12], Villalon M[2], Best C[3] & Räth C[4]. [1]ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile. [2] Facultad de Ciencias Biológicas, PUC. [3]Max-Planck-Institutes of Biochemistry (Martiensried), [4]Extraterrestrial Physics (Garching), Alemania. shartel@med.uchile.cl

Objetivos: Colocalization refers to the detection of biological structures at the same physical location defined by the resolution of fluorescent microscopes. Although the concept is widely used, the quantification is often ambiguous since existing analytical methods do not account for the diffraction limited intensity pattern of microscopic point spread functions. We present an algorithm which quantifies colocalization reliably and leads to an estimation of its statistical relevance in different subcellular compartments**.**
Metodología: We combine selected segmentation of subcellular regions with the calculation of colocalization indices in combination with a random scenario based on defined radial displacements. Probability density functions derive statistical significance (p-values). We analyzed colocalization of $GABA_BR$ subunits in dendrites of cultured hippocampal neurons, and of mucins MUC5AC and MUC5B inside secretory granules of primary epithelial cells of the human respiratory tract.
Resultados: Subunits of $GABA_BR$ in dendrites and axons colocalize at the plasma membrane but not in intracellular compartments. Mucins MUC5AC and MUC5B provide low degrees of colocalization inside secretory granules which reveals separated spatial confinements. In both systems coefficients of colocalization coincide with Western blot densitometry.
Conclusiones: Our algorithm leads to a robust and statistically solid quantification of colocalization of subcellular structures in fluorescent images.
FONDECYT 1060890, 1071001, 1040804.

(127) DESARROLLO DE MODELO MURINO DE GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL Y SEGMENTARIA (GSFS) DEBIDO A MUTANTES DEL CANAL DE CALCIO TRPC6 (Generation of a murine model of FSGS with mutations in the calcium channel Trpc6) **Paola Krall**[(a,b)], César Canales[(a,b)], Katherina Walz[(a)]. (a) Centro de Estudios Científicos, CECS, Valdivia, Chile. (b) Universidad Austral de Chile. paolakrall@cecs.cl

Objetivo Generar los cDNA del canal *Trpc6* con las mutaciones P111Q y E896K, asociadas al desarrollo de GSFS en humanos, estudiar características *in vitro* de las proteínas y generar ratones transgénicos órgano-específico para estudiar su fenotipo renal.
Metodología: Por PCR hemos añadido una cola HA al cDNA del canal *Trpc6 wild type* e inducido sobre esta construcción las mutaciones P111Q y E896K. La transcripción, localización subcelular y abundancia de las construcciones se comprobó por RT-PCR, inmunofluorescencia y *Western Blot* en células EBNA293. Hemos subclonado las construcciones rioabajo del promotor de podocina (pNPHS2) y generado ratones transgénicos, cuyo DNA se genotipifica por PCR y somete a *Southern Blot*. El fenotipo de los ratones es estudiado por mediciones de proteinuria, análisis macroscópico del riñón y tinciones H&E.
Resultados y Conclusiones: Las construcciones *Trpc6-HA wild type*, P111Q y E896K se expresan con abundancia similar en EBNA293 y con peso molecular esperado (~106kDa). La localización de las proteínas es periférica y co-localiza con un marcador de membrana. Actualmente, tenemos ratones transgénicos para pNPHS2 *Trpc6-HA wild type*, P111Q y E896K. Seleccionamos tres líneas transgénicas de cada construcción que poseen 2-25 copias del transgen. Hasta los 2 meses no encontramos diferencias significativas en niveles de proteinuria. Sin embargo, en ratones transgénicos encontramos riñones de color pálido y alteraciones histológicas a la edad de 2-3 meses, consistentes con otros modelos de GSFS.

(128) LA EXPRESIÓN DE LOS TRANSPORTADORES DE UDP-GLUCOSA *AtUTr1* Y *AtUTr3* SUGIERE UNA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL COMÚN CON GENES INVOLUCRADOS EN PLEGAMIENTO PROTEICO (The expression of the UDP-glucose transporters *AtUTr1* and *AtUTr3* suggest a common transcriptional regulation with genes involved in protein folding) **Adrian Moreno** y Ariel Orellana. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello. aorellana@unab.cl

Objetivos: Determinar que genes co-expresan con *AtUTr1* y *AtUTr3* y medir sus niveles de expresión en condiciones que producen estrés en el retículo endoplásmico. Identificar elementos regulatorios en los promotores de los genes *AtUTr1* y *AtUTr3* que sean comunes a elementos presentes en los promotores de otros genes que se inducen ante estrés en el retículo endoplásmico**.**
Metodología: Identificamos genes que co-expresan con *AtUTr1* y *AtUTr3* utilizando bases de datos de co-expresión. Confirmamos los cambios de expresión mediante PCR en tiempo real. Las secuencias de los promotores de estos genes fueron analizadas para identificar elementos regulatorios comunes a ellos. Finalmente, la activación de los promotores se analizó mediante una fusión de los promotores con el gen reportero GUS. Estas construcciones fueron expresadas en hojas de tabaco.
Resultados: Observamos una co-expresión de los transportadores con genes asociados al plegamiento proteico, encontrando elementos regulatorios comunes en los promotores de todos ellos. Las fusiones transcripcionales de los promotores al gen reportero GUS, indican que la actividad del promotor aumenta al realizar tratamientos que inducen estrés por mal plegamiento de proteínas.
Conclusiones: Los genes *AtUTr1* y *AtUTr3* son co-expresados con chaperonas presentes en el RE. Además, sus promotores poseen elementos de respuesta a estrés lo que sugiere que estos genes participan en el control de calidad en el RE.
Fondecyt 1070379, Núcleo Milenio PCB P02-009F

(129) ANALISIS DE LA EXPRESSION DE GENES INVOLUCRADOS EN EL CRECIMIENTO MUSCULAR DEL LENGUADO CHILENO*:* EFECTO DE LA RESTRICCIÓN NUTRICIONAL Y EL CRECIMIENTO COMPENSATORIO *(*Expression analysis of genes involved in the Chilean flounder muscle growth: Nutritional restriction and compensatory growth effect) **Poblete E.,** Fuentes E., Escobar S., Estrada J.M., Álvarez M., Vera M.I., Molina A. Lab. Biotecnología Molecular, Universidad Andrés Bello, MIFAB. amolina@unab.cl

Objetivos: En acuicultura, el crecimiento en términos de desarrollo muscular, es una prioridad estratégica. Así se han diseñado diversos métodos para maximizar el crecimiento de peces en cultivo, siendo uno de éstos someter los peces a un periodo de restricción nutricional seguido por un periodo de realimentación, tratamiento que genera un incremento de las tasas de crecimiento. Consecuentemente, nos interesa estudiar algunos genes involucrados en el desarrollo y crecimiento muscular en experiencias de crecimiento compensatorio en juveniles de lenguado chileno *(Paralichthys adspersus).*
Metodología: Se evaluó por qPCR la influencia de la inanición (4 semanas) sobre la expresión de los transcritos de la MHC, IGF-I, IGF-IR, GHR y la miostatina, en función de datos obtenidos por medición de parámetros directos de crecimiento.
Resultados: Observamos una correlación entre la expresión génica, la pérdida de masa corporal durante la hambruna y la notable recuperación observada durante el período de realimentación. Durante la inanición, se observó una disminución de la expresión de myosina e IGF-I, mientras que la expresión de los receptores IGF-IR y GHR aumentó.
Conclusiones: Nuestros resultados, además de contribuir al conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la respuesta compensatoria a la hambruna en teleósteos, sugieren que el análisis de la expresión de estos genes puede ser utilizado para evaluar nuevos protocolos de alimentación en acuicultura.
DI/UNAB-03-05/I, FONDECYT-1050272.

(130) CONSTRUCCIÓN DE UN VECTOR LENTIVIRAL BICISTRÓNICO BASADO EN LA SECUENCIA 1D/2A DEL VIRUS DE FIEBRE AFTOSA PARA USO EN NEUROBIOLOGÍA (Construction of a bicistronic lentiviral vector based in the 1D/2A secuence of Foot–and-Mouth Disease Virus (FMDV) for use in neurobiology) **Silvia Tapia**, Eduardo Pizarro, Viviana Torres, Sergio Leal*, Craig Garner*, Pedro Zamorano. FACSA, Universidad de Antofagasta, *Stanford University. zamorano@uantof.cl

Objetivo. Los vectores lentivirales son de gran uso en neurobiología debido a su capacidad integrarse y expresar proteínas en células posmitóticas. Sin embargo, su capacidad de carga esta limitada a 9.5 kb de DNA empaquetado. Esta desventaja se ve acentuada en vectores lentivirales bicistrónicos basados en secuencias IRES. Aquí presentamos un vector lentiviral bicistrónico, basado en la secuencia 1D/2A del virus de la fiebre aftosa que permite la expresión de EGFP y la proteína de interés etiquetada con el epitope HA.
Metodologia. El plásmido FUGW fue modificado introduciendo el constructo EGFP-1D/2A-HA-sitio de policlonación corriente abajo del promotor de Ubiquitina. La efectividad de la secuencia 1D/2A en la coexpresión de proteínas fue evaluada con EGFP y Exo70 en células HEK293-T por análisis de inmunofluorescencia y Western blot.
Resultados. La secuencia 1D/2A permitió bajo la dirección de un sólo promotor la coexpresión con alta eficiencia de EGFP y Exo70 en células HEK293-T con un bajo porcentaje de proteínas fusionada EGFP-Exo70.
Conclusiones. Este vector permite monitorear el porcentaje de células infectadas por expresión de EGFP y la expresión de la proteína de interés por inmunofluorescencia hacia la etiqueta HA. La secuencia 1D/2A al ser de menor tamaño que las secuencias IRES tradicionales, permite expresar proteínas de mayor peso molecular en vectores lentivirales.
Financiamiento: Proyecto DirInv # 1315 Univ. de Antofagasta. Fondecyt # 1070462.

Paneles III

(131) ESTUDIO DEL POTENCIAL OSTEOGÉNICO DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS DE LA MÉDULA ÓSEA OBTENIDAS DE MUJERES POST-MENOPÁUSICAS: EXPRESIÓN DE Runx2 Y DE MARCADORES DE DIFERENCIACIÓN OSTEOGÉNICOS (Study of the osteogenic potential of mesenchymal stem cells from bone marrow of postmenopausal women: expression of Runx2 and osteogenic markers) **Pablo Astudillo**, Susana Ríos, Luis Pastenes, Jazmine Zheng, Ana María Pino, Patricio Smith y Juan Pablo Rodríguez. Laboratorio de Biología Celular, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, U. de Chile. pastudillo@inta.cl

Objetivo. Las células troncales mesenquimáticas (MSC) presentes en la médula ósea, son capaces de diferenciarse hacia osteoblastos y adipocitos. Alteraciones en la regulación de la diferenciación de estas células puede influir en el establecimiento de patologías óseas, como la osteoporosis. En este trabajo, estudiamos el potencial osteogénico de las MSC obtenidas de mujeres postmenopáusicas.
Metodología: Se purificaron MSC a partir de aspirados de médula ósea obtenidos durante procedimientos quirúrgicos en mujeres postmenopáusicas. Se determinó la expresión y fosforilación de Runx2 a nivel de proteína (mediante inmunofluorescencia y western blot) y RT-PCR. Se midió, además, la abundancia relativa de los transcritos de genes osteogénicos (*runx2, osx, alp, col1a1* y *bglap*).
Resultados: En estas células, existe un bajo nivel de expresión de Runx2, el cual permanece constante durante la diferencación osteogénica temprana (0-7 días). Sin embargo, se observa un incremento moderado en la expresión y fosforilación en residuos de treonina de Runx2 durante las primeras 24 horas. Se observó la expresión de los diversos marcadores de diferenciación, sugiriendo que las MSCs de mujeres postmenopáusicas retienen su potencial osteogénico.
Conclusiones: Las MSCs de mujeres postmenopáusicas presentan capacidad de diferenciación osteogénica, representada por la expresión de Runx2 y otros marcadores de diferenciación osteogénica.
Financiamiento: FONDECYT # 1050930 (JPR), # 1061065 (PCS)

(132) ANALISIS DE INICIO DE TRANSCRIPCIÓN EN ONCOGENES EN LA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER DE MAMA ZR-75-1 (Analysis of oncogene transcription start sites in the breast cancer cell line ZR-75-1) **Bravo, ML.,** Pinto, MA., Owen GI. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. mlbravo@uc.cl

Objetivo: Factor Tisular (TF) y 11β-HSD2 son oncogenes sobreexpresados en cáncer de mama. Sabemos que variaciones en la zona 5´UTR pueden definir la expresión tejido-específica y alterar los niveles proteicos. Demostramos en células ZR-75-1 la presencia de sitios de inicio de transcripción adicionales al descrito para TF. Para 11β-HSD2 se encontró 3 sitios no descritos y se observa un "splicing" del exon 1, conservando el marco de lectura. Nuestro objetivo es examinar los efectos en las variaciones de estos dos oncogenes.
Metodología: Clonar los sitios de inicio de TF y transfectarlos para determinar si existen alteraciones en niveles proteicos. Generar un vector de expresión de 11β-HSD2 el cual no cuenta con exon 1.
Resultados: La presencia del sitio c (-93 pb) del 5´UTR de TF presenta una mayor actividad respecto que los otros sitios (a y b). Generamos un vector de expresión de 11β-HSD2 el cual no cuenta con exon 1.
Conclusiones: Mostramos por primera vez que el uso alternativo de sitios de transcripción de gen de TF pueden alterar los niveles proteicos. Futuros experimentos determinarán el efecto en la estabilización del mensajero o en la tasa de traducción causado por las variaciones en la zona 5´UTR.

(133) IGF-1 ACTIVA A NADPH OXIDASA EN CARDIOMIOCITO (IGF-1 promotes NADPH oxidase in cardiomyocytes) **José Luis Bucarey[1,2],** Rafaela Erices[1,2], Juan Pablo Muñoz[1], Cecilia Hidalgo[1], Sergio Lavandero[1]. [1]Centro FONDAP CEMC, Universidad de Chile y [2]Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Objetivos: IGF-1 es un potente agente prohipertrófico del cardiomiocito, desconociéndose la participación de las especies reactivas del oxígeno (ROS) en este proceso. Dado que NADPH oxidasa es una fuente de ROS, se evaluó si IGF-1 regula su actividad, expresión de subunidades, translocación a membrana y papel en la hipertrofia cardiaca**.**
Metodología: La actividad NADPH oxidasa se determinó mediante quimioluminiscencia. Los cambios de expresión y translocación de sus subunidades en fracciones totales y subcelulares obtenidas por centrigufación diferencial se evaluaron por Western blot. Los niveles de la cadena pesada de la β-miosina (β-MHC), marcador de hipertrofia, se determinaron por Western blot.
Resultados: IGF-1 aumentó la actividad NADPH oxidasa entre 0 y 2 h, alcanzando un máximo a los 30 min. IGF-1 no cambió la expresión de $gp91^{phox}$ y $p67^{phox}$. Sin embargo, los niveles de $p47^{phox}$ disminuyeron a las 2 h post-estímulo, siendo este efecto bloqueado por el inhibidor del proteosoma MG132. IGF-1 estimuló la translocación de $p47^{phox}$ desde una fracción citosólica a una de membrana a los 10 min, no observándose este efecto a las 2 h. Finalmente, IGF-1 aumentó 1,8 veces la expresión de □-MHC, efecto suprimido por DPI (un inhibidor no específico de NADPH oxidasa).
Conclusiones
Los resultados sugieren que NADPH oxidasa participa en la señalización activada por IGF-1 y preliminarmente en su efecto prohipertrófico. IGF-1 regularía localización y abundancia de $p47^{phox}$ en el cardiomiocito y generación de ROS dependiente de $p47^{phox}$.
FONDAP 15010006

(134) TRANSPLANTE *IN UTERO* DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS (MSC) ALOGÉNICAS CURA A PACIENTES CON OSTEOGENESIS IMPERFECTA (OI) (Allogeneic MSC *in utero* transplantation cures OI patients) Masami Yamamoto[1,2], Carolina Allers[3], Alvaro Insunza[1,2], Enrique Testart[2], Timoleón Anguita[2], Cecilia Götherström[4], Katarina Le Blanc[4], **Paulette Conget[3].** [1]Hospital Padre Hurtado. [2]Clínica Alemana. [3]Instituto de Ciencias, Facultad de Medicina Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo. [4]Instituto Karolinska. pconget@udd.cl

Objetivo. OI es una patología genética causada por mutaciones en colágeno I que resultan en una deficiente mineralización ósea. Las MSC contribuyen a la homeostasis del hueso. En el presente ensayo clínico se intentó tratar 2 fetos que presentaban múltiples fracturas intrauterinas, administrándoles MSC antes del nacimiento.
Metodología. La semana 31 de gestación, un feto masculino y uno femenino diagnosticados ecográfica y molecularmente con OI, recibieron vía cordocentesis $2\text{-}3x10^6$ MSC/kg aisladas de la médula ósea de la madre y el padre, respectivamente. Los pacientes fueron seguidos hasta la semana 38 de gestación y nacieron por cesárea. Post-natal se evaluaron radiográfica y clínicamente. A los 20 y 10 meses de edad se obtuvieron biopsias de piel y hueso que fueron analizadas por FISH para determinar quimerismo.
Resultados. Post-trasplante ambos embarazos cursaron sin incidentes hasta el término programado. Los recién nacidos fueron de talla y peso normal y sólo presentaban los callos de las fracturas detectadas antes del trasplante. A la fecha, los niños tienen 2 y 1 año, respectivamente; no se han fracturado, presentan desarrollo sicomotor y crecimiento normal. En ninguna de las muestras analizadas (sensibilidad 1/10.000) fue posible detectar células de los donantes.
Conclusiones. El trasplante *in utero* de MSC adultas alogénicas evita las fracturas y facilita el desarrollo óseo en pacientes con OI, a pesar del bajo o nulo quimerismo observado a largo plazo.

(135) REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE MEGALINA POR LOS RECEPTORES NUCLEARES FXR Y PPARγ Y SU IMPLICANCIA EN PATOLOGÍA BILIAR (Regulation of Megalin by the nuclear factors FXR and PPARγ and its implication in gallstones disease)

Zúñiga S.[1], **Díaz D.**[1], Ramos B.1, Arrese M.[2], Miquel JF.[2], Marzolo MP.[1] (1) Centro FONDAP CRCP, Fac. de Ciencias Biológicas, PUC. (2) Dpto. de Gastroenterología, Facultad de Medicina, PUC. szuniga@med.puc.cl

Objetivos: La colelitiasis es una enfermedad metabólica de alta prevalencia en países occidentales (Chile >30%). El gen de megalina, glicoproteína miembro de la familia de LDL-R se expresa en células epiteliales de vesícula biliar cuyo gen es candidato para la colelitiasis. Su regulación génica aún no ha sido descrita. Previamente vimos activación de su promotor por FXR y PPARγ. Quisimos evaluar *in vivo* esta regulación y su implicancia en patología biliar.
Metodología: Vesícula biliar de ratones con distinta susceptibilidad a colelitiasis (C57BL6J y Balbc) y el ratón FXR-/-. Se midieron niveles basales de ARNm de megalina por qRTPCR. Se realizó tratamiento con el agonista de PPARγ Rosiglitazona y se evaluó la expresión del ARNm de megalina del mismo modo.
Resultados: Observamos una diferencia en la expresión génica basal de megalina en los ratones con distinta susceptibilidad a colelitiasis. Basalmente el ratón FXR-/- presenta una menor expresión de ARNm de megalina (50% menos) comparado con el ratón silvestre. El agonista PPARγ induce la expresión génica de megalina.
Conclusiones: Dados estos resultados, una mayor susceptibilidad a colelitiasis está relacionada con una menor expresión de megalina. *In vivo* megalina es regulada por FXR y PPARγ. Ya que existen drogas que podrían aumentar la expresión de megalina estamos evaluando si esto podría evitar la formación de cálculos biliares en modelos murinos con futuras implicancias terapéuticas en humanos.
(Fondecyt 1070373.Fondap 13980001)

(136) MICROAMBIENTE OSTEOCLASTOGENICO EN ESTROMAS DE MEDULA OSEA DE PACIENTES CON MIELOMA MULTIPLE (Osteoclastogenic microenvironment in bone marrow stroma from multiple myeloma patients)

Figueroa P, Astudillo P, Flores A, Rodríguez JP, Alarcón G, Fernández M. Biología Celular, INTA, Universidad de Chile. mfernand@inta.cl

En el Mieloma Múltiple (MM), la interacción de las células plasmáticas malignas con el microambiente de la médula ósea (MO) provoca un aumento en la formación y activación de osteoclastos, lo que deriva en lesiones óseas osteolíticas. La caracterización reciente del ligando del receptor activador de NF-kappa B (RANK-L) ha contribuido notablemente a la comprensión de los procesos celulares involucrados en la osteoclastogénesis.
Objetivo: Evaluar la expresión de RANK-L por células de estroma de MO de pacientes con MM y su modulación por IL-1β y la presencia de unidades formadoras de colonias osteoclásticas (CFU-O) en cultivos primarios y compararlas con MO de sujetos normales.
Metodología: Establecimos cultivos de células de estroma a partir de células mononucleadas de MO. La expresión de RANK-L se determinó por RT-PCR y Western blot. La cantidad de CFU-O se evaluó mediante detección de fosfatasa ácida tartrato resistente y por inmunofluorescencia con el Acpo $\alpha_v\beta_3$-FITC. **Resultados**: Las células de estroma de MM expresan RANK-L y dicha expresión es mayor que en células de estroma normal. IL-1β aumenta la expresión de RANK-L en células de estroma normal. En todos los cultivos primarios de MO de MM y en ninguno de MO normal, se detectó la presencia de CFU-O. **Conclusión**: Estos resultados apoyan la existencia de un microambiente osteoclastogénico en la MO de pacientes con MM, el que podría manifestarse también en otras patologías como la osteoporosis en la que coexisten lesiones osteogénicas y osteolíticas.
Fondecyt Nº1071114.

(137) REGULACION DEL PROMOTOR DEL GEN RUNX2 DURANTE EL CICLO CELULAR EN PRE-OSTEOBLASTOS (RUNX2 promoter regulation during pre-osteoblast cell cycle)

Mario Galindo[1], Nelson Varela[1], Tripti Gaur[2], Christopher Lengner[2], Jane Lian[2], Janet Stein[2], Gary Stein[2], Andre van Wijnen[2]. [1]Prog. de Biol. Cel. y Molec., Inst. de Cs. Biomédicas, Fac. de Medicina, U. de Chile. [2]Department of Cell Biology and Cancer Center, U. of Massachusetts Medical School, Worcester, USA.

Objetivo: En mamíferos, el desarrollo del sistema óseo requiere la expresión y función del factor de transcripción Runx2. Alteraciones en la expresión o función de este factor están relacionadas a algunas patologías como DCC y cáncer óseo. Previamente, hemos demostrado que Runx2 ejercer una función anti-proliferativa, lo que vincula este factor al control de la proliferación celular y diferenciación ósea. Consecuentemente, los niveles de Runx2 son controlados en forma negativa por el ciclo celular en pre-osteoblastos durante la etapa de expansión proliferativa previo a la diferenciación. Nuestra hipótesis propone que el promotor del gen Runx2 es modulado por el ciclo celular.
Metodología: Para probar esta hipótesis, se analizó la actividad del promotor de RUNX2 acoplado a un gen reportero, durante el ciclo celular en pre-osteoblastos sincronizados. Las células fueron transfectadas y bloqueadas en distintas etapas del ciclo celular o sincronizadas respecto G1 para analizar la actividad del promotor durante la progresión en el ciclo celular.
Resultados: Nuestros resultados muestran que la actividad del promotor de RUNX2 es regulado por el ciclo celular. Además, utilizando una serie de variantes estructurales del promotor se identificaron regiones de regulación dependientes del ciclo celular.
Conclusiones: Estos resultados indican que la expresión de Runx2 es controlada a nivel transcripcional por el ciclo celular durante la expansión proliferativa de los pre-osteoblastos.
Financiamiento: Fondecyt 1040772

(138) CALCINEURIN B OF *Trypanosoma cruzi* IS INVOLVED IN CELL INVASION (Calcineurina B de *Trypanosoma cruzi* participa en la invasión celular)

Jorge. E. Araya[1], Alberto Cornejo[1], Patricio Orrego[1], Esteban M. Cordero[1] Mauro Cortez[1], Sergio Rodriguez[1], Héctor Olivares[1], Iván Neira[1], Hernán Sagua[1], José Franco da Silveira[2], Nobuko Yoshida[2] and **Jorge González**[1] [1]Parasitology Unit, U. of Antofagasta, Chile and [2]Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, UNIFESP, SP, Brasil. jearayar@uantof.cl

During *Trypanosoma cruzi* cell invasion, signal transduction pathways are triggered in parasite and host cells leading to a rise in the intracellular Ca^{2+} concentration.
Objetives: Isolate and characterize, the *T. cruzi* calcineurin B (TcCaNB-CL), the regulatory subunit of calcineurin (CaN), and demonstrate its participation in host cell invasion.
Methodology: Cell invasion assays were performed using trypomastigotes pre incubated or not with Cyclosporin A or antisense oligonucleotides. The biochemical activity of CaN was detected in metacyclic and tissue culture trypomastigotes. and the TcCaNB-CL was cloned and characterized.
Results: Cell invasion assays showed that treatment of trypomastigotes with CsA or Cype strongly inhibits (62-64 %) its entry into HeLa cells. The cytosolic activity of CaN was detected by biochemical approach in both metacyclic and tissue culture trypomastigotes. We cloned and characterized the TcCaNB gene which codes for a 19 kDa protein. In RNA interference assays where parasites were treated with antisense phosphorothioate oligonucleotides directed to TcCaNB, the invasion of either metacyclic or tissue culture trypomastigotes was inhibited by ~50 %.
Conclusion: Taking into account that TcCaNB differs considerably in its primary structure from the human CaNB, and that it may play a key role in host cell invasion, TcCaNB should be considered as a potential new chemotherapeutic target.
Support: FONDECYT 1051045 and Fundación Andes C13955/17

(139) LA RE-INCORPORACIÓN DE CAVEOLINA-1 EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA, NO REDUCE EL POTENCIAL INVASIVO DEPENDIENTE DE FACTOR TISULAR (The re-corporation of caveolin-1 does not reduce the tissue factor-dependent invasive potential of breast cancer cells)
Soledad Henriquez Barrera, Andrew F. Quest y Gareth I. Owen. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. soledadhenriquez@yahoo.es

Objetivos: Caveolina-1 es una proteína que pierde expresión en células de cáncer de mama, mientras que factor tisular (FT) ha sido relacionado con la agresividad del cáncer. El dogma dicta que FT es inhibido por "Tissue Factor Pathway Inhibitor" (TFPI) formando un complejo con FT, produciendo la redistribución de este complejo a microdominios de tipo caveola donde FT permanece inactivo. En este trabajo determinaremos si la re-incorporación de caveolina-1 a células de cáncer de mama permite la redistribución del complejo Factor Tisular/TFPI a microdominios de membrana, reduciendo el potencial invasivo de estas células.
Metodología: Células ZR-75 transfectadas y no transfectadas con caveolina fueron utilizadas para realizar fraccionamiento en gradientes de sacarosa y ensayos de invasión *in vitro*, tanto en condición control como luego del tratamiento con progesterona y TFPI.
Resultados: Después del tratamiento con progesterona FT se distribuyó solamente a fracciones pesadas de membrana, mientras que en presencia de TFPI, es redistribuido parcialmente a microdominios insolubles en detergente de manera independiente de la presencia de caveolina-1. La presencia de TFPI en las células ZR-75 y ZR-75/CAV-1, disminuye en igual nivel, el potencial invasivo de estas células.
Conclusión: La re-introducción de caveolina-1 no disminuye el potencial invasivo de las células de cáncer de mama ZR-75, sugiriendo que el mecanismo de acción de TFPI no es mediante la distribución de FT a caveolas.

(140) 2-METOXIESTRADIOL INDUCE APOPTOSIS EN CÁNCER DE OVARIO A TRAVÉS DE VÍAS DEPENDIENTES E INDEPENDIENTES DE CASPASAS (2-methoxyestradiol induce apoptosis in ovarian cáncer by caspase-dependent an independent pathways)
Kato S., Sadarangani A., Lange S., Jaque M., Owen G., Cuello M. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. skato@med.puc.cl

El cáncer de ovario constituye la neoplasia ginecológica más letal. Esto se debe a que la mayoría de los casos son detectados en etapa avanzada y a la adquisición de resistencia a los tratamientos existentes (ej. Quimioterapia). Previamente hemos demostrado que 2-metoxiestradiol (2ME) aumenta la apoptosis en células de cáncer de ovario.
OBJETIVOS Determinar los posibles mecanismos por los cuales 2ME induce su efecto apoptótico en células de cáncer de ovario A2780.
MÉTODOS Por western blot se determinan los niveles de proteínas involucradas en la vía extrínseca e intrínseca de la apoptosis, por MTS los efectos de metabolitos del estrógeno, ICI y de inhibidores de caspasas.
RESULTADOS 2ME y su precursor 2-hidroxiestradiol generan pérdida de viabilidad por MTS, no se observan cambios en la respuesta a 2ME (5 μM) al co-incubarlo con ICI (inhibidor competitivo del estradiol). Se observa aumento de citocromo c, Bcl2 fosforilado y Smac/Diablo en la fracción citosólica y aumento de Bad y Bax en la fracción mitocondrial. Además aumento de AIF en citosol y núcleo y disminución en mitocondria. Al co-incubar las células con inhibidores de caspasa 8 y 9 con 2ME, se observa reversión parcial de la pérdida de viabilidad.
CONCLUSIÓN 2ME actúa independiente del receptor de estrógeno, a través de la vía intrínseca de la apoptosis y por vías dependientes e independientes de caspasas.

(141) CAVEOLIN-1 FUNCTIONS BOTH AS A TUMOR SUPPRESSOR AND PROMOTER OF METASTASIS IN MELANOMA CELLS (Caveolina-1 funciona como un supresor de tumores y promueve metástasis en células de melanoma)
Lorena Lobos-González, Lorena Aguilar, Vicente Torres, Alvaro Lladser, Lisette Leyton, Andrew FG Quest. FONDAP Center for Molec. Studies of the Cell (CEMC), Fac. de Medicina, U. de Chile. aquest@med.uchile.cl

Objective: Caveolin-1 has frequently been attributed a role as tumor suppressor. However, data is also available associating presence of this protein in late-stage tumors with enhanced metastasis. The molecular basis for such dramatic changes in caveolin-1 formation remain unknown. The objective of this study was to identify an experimental model where caveolin-1 displayed both characteristics *in vivo*.
Methodology: B16-F10 cells are a melanoma line isolated from C57BL/6 mice (B16-F1) that was then selected for elevated metastatic potential (B16-F10). Derivatives of this cell line were generated by stable transfection with either empty vector (pLacIOP) or vector containing the caveolin-1 sequence (pLacIOPcav-1). Tumor volume was recorded in animals injected subcutaneously (300,000 cells). For metastasis assays, animals were injected intravenously (200,000 cells). Lungs were removed and fixed on day 21 post-injection. Black tissue, corresponding to lung metastases was separated from the rest of the lung and weighed.
Results: *Tumor Formation* of B16-F10 melanoma cells expressing caveolin-1 in C57BL/6 mice was reduced by 60% compared to cells lacking caveolin-1 ($p<0,005$). *Metastasis Assays* revealed that B16-F10 melanoma cells expressing caveolin-1 generated at least twice the lung metastasis mass observed with cells lacking caveolin-1 ($p<0,001$).
Conclusions: Caveolin-1 expression in B16-F10 melanomas suppressed the formation of tumors and promoted metastasis in C57BL/6 mice. This experimental model will permit identification of molecular traits of caveolin-1 responsible for these dramatically different properties of the protein *in vivo*.
Supported by FONDAP 15010006 (AFGQ), FONDECYT 1070699 (LL) and a CONICYT PhD Fellowship (LL-G).

(142) ANGIOTENSINA II REGULA EL COMPORTAMIENTO DEL MIOFIBROBLASTO CARDIACO QUE SOBREEXPRESA RECEPTORES AT1 (Angiotensin II regulates the behaviour of cardiac miofibroblast overexpressing AT1)
Francisca Mateluna, Raúl Vivar-Sánchez, Sergio Lavandero, Guillermo Diaz-Araya. Centro FONDAP-CEMC. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. pancha_m@yahoo.es

Objetivo: El miofibroblasto cardiaco participa en el remodelado de la matriz extracelular cardiaca, adhiriéndose al colágeno y fibronectina para contraer el tejido de cicatrización. Angiotensina II (Ang II) es un regulador cardiovascular clave pero se desconoce cómo modula la función del miofibroblasto. En este trabajo se evaluó si Ang II regula el comportamiento del miofibroblasto cardiaco que sobrexpresan el receptor AT1 (AT1R).
Metodología: Cultivos primarios de miofibroblastos se transducieron con un adenovirus que expresa el AT1 y luego se trataron con Ang II (100 nM), evaluándose la migración y su adhesión sobre fibronectina, colágeno y laminina. La actividad de la metaloproteasa II (MMP2) se determinó por zimografía y niveles de colágeno tipo I y fibronectina por Western blot.
Resultados: Ang-II no estimuló la migración de miofibroblastos controles o transducidos con AT1R ni tampoco modificó la adhesión celular sobre colágeno y fibronectina. Ang II disminuyó la actividad de MMP-2 en miofibroblastos basales y en los que sobrexpresaban AT1R. Sin embargo, Ang II aumentó la síntesis de fibronectina y colágeno en los miofibroblastos que sobrexpresaban el receptor.
Conclusiones: La sobrexpresión del AT1R no produjo cambios en la migración y adhesión celular al estimular los miofibroblastos con Ang II. La actividad de las MMP-2 disminuyó al estimular con Ang-II, pero no cambió al sobrexpresar el AT1R. Ang II aumentó la síntesis de proteínas de la MEC, la cual se incrementó al sobrexpresar el AT1R.
FONDECYT 1061059 (GDA), FONDAP 1501006 (SL)

(143) LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR B_1 DE CININAS INDUCE PROLIFERACIÓN EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA (Activation of the kinin B_1 receptor induces proliferation of breast cancer cells) **Molina L.,** Pavicic MF, Matus CE, Ehrenfeld P, Figueroa CD. Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Objetivos: Recientemente se ha postulado que el receptor B_2 de cininas (RB_2) participaría en el progreso del cáncer mamario induciendo fosforilación de MAPK ERK1/2, expresión de c-Fos y mitogénesis. Evaluamos la capacidad de ambos receptores de cininas -particularmente RB_1- en proliferación celular y activación de una vía mitogénica como ERK1/2 y su interacción con 17-□-estradiol en la línea de adenocarcinoma mamario MCF-7**.**
Metodología: Se determinó la expresión de RB_1 y RB_2 en tejido tumoral humano y en células MCF-7 por inmunocitoquímica, autoradiografía y RT-PCR. Se evaluó la capacidad de agonistas B_1 y B_2 y de 17-□-estradiol para inducir proliferación celular mediante un ELISA que mide incorporación de BrdU. Para determinar la activación de la vía ERK1/2, se estimuló las células a diferentes tiempos y concentraciones de bradicinina (agonista B_2) o Lis-Des[Arg^9]-bradicinina (agonista B_1).
Resultados: Se detectó expresión y sitios de unión B_1 y B_2 en tejido mamario tumoral y en células MCF7. El agonista B_1 indujo proliferación de las células MCF-7 a concentraciones tan bajas como 1 nM y con mayor efectividad que el agonista B_2. La co-estimulación de las células con el agonista B_1 y 17-□-estradiol no provocó un aumento en la tasa de proliferación. La estimulación del RB_1, además conduce a la fosforilación de ERK1/2 en una manera tiempo y dosis dependiente. La activación de esta vía fue inhibida utilizando un antagonista B_1.
Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que ambos receptores de cininas podrían contribuir al desarrollo y progresión del cáncer mamario exacerbando la proliferación de las células neoplásicas.
Financiado por FONDECYT 1030258

(144) EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS PROAPOPTOTICAS INDUCIDAS POR ETOPOSIDE EN TESTÍCULO DE RATAS PREPÚBERES (Expresion of proapoptotic proteins induced by etoposide in prepuberal rats testis) **Rina Ortiz** y Ricardo D. Moreno. Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad católica de Chile, Santiago. riortiz@puc.cl

Objetivo: Estudiar el patrón de expresión de los mensajeros de proteínas pro-apototicas inducidas por etoposide (inhibidor de la topoisomerasa II) en el testículo sano de ratas prepúberes**.**
Metodología: Se realizó una curva dosis respuesta mediante la inyección intratesticular del fármaco en ratas de 21 días y la apoptosis se evaluó por medio de PAS/Hematoxilina 48 horas después. Se estudió la expresión de diversas proteínas proapoptoticas mediante RT-PCR semi-cuantitativo, western blot, ensayos de actividad enzimática, inmunohistoquímica y citometría de flujo.
Resultados: Etoposide induce la apoptosis principalmente de espermatocitos y en menor medida en espermatogonias. Etoposide induce la activación de las caspasas-3, -8 y -9. La apoptosis se inhibió significativamente al inyectar el inhibidor general de caspasas z-VAD-fmk. Además se observó un aumento en los mensajeros de las proteínas proapoptóticas BAX, BAD, p53 y antiapoptóticas como Bcl-xl. El análisis hecho mediante inmmunohistoquímica y citometría de flujo muestran aumento de la expresión del receptor de muerte Fas.
Conclusiones: La evaluación de los efectos de drogas anticancerígenas en individuos juveniles con cáncer testicular es muy importante, sobre todo por el impacto en la vida reproductiva adulta de pacientes adolescentes sometidos a quimioterapia. Estos resultados son relevantes para entender los posibles efectos dañinos sobre células "sanas" que pueda tener esta droga en pacientes con cáncer testicular o que son sometidos a esta quimioterapia.
FONDECYT 1070360 a RDM

(145) EL ESTRÓGENO Y TAMOXIFENO MODULAN EL ESTADO FUNCIONAL DE CANALES FORMADOS POR CONEXINAS EN CELULAS ZR-75-1, UNA LÍNEA CELULAR DERIVADA DE CÁNCER DE MAMA HUMANO (Estrogen and tamoxifen modulation of the functional state of connexin-based channels in ZR-75-1, a cell line derived from human breast cancer) **Nicolás Palacios-Prado,** Kurt Schalper, Gareth Owen, Juan C. Sáez. Pontificia Universidad Católica de Chile. nypalaci@puc.cl

Objetivo La comunicación intercelular mediada por canales formados por conexinas juega un papel importante en una gran variedad de procesos celulares que se encuentra frecuentemente alterada en cáncer. En el presente trabajo se estudiaron los cambios en el estado funcional de estos canales en respuesta a estrógeno y Tamoxifeno en una línea celular derivada de cáncer de mama**.**
Metodología: Se utilizo cultivos subconfluentes (<80%) de células ZR-75-1. El estado funcional de los canales de uniones en hendidura y hemicanales formados por conexinas se evaluó mediante la técnica de transferencia a colorante (amarillo de Lucifer y etidio) y captación de colorante (etidio), respectivamente. Los cambios de forma, motilidad celular y velocidad de captación de etidio se evaluaron mediante la captura de imágenes en tiempo real ("time lapse").
Resultados*:* Células ZR-75-1 no presentaron acoplamiento intercelular y estrógeno no indujo transferencia a colorante pero si aumento la velocidad de captación de colorante. El Tamoxifeno indujo también aumentó la velocidad de captación de colorante en forma tiempo-concentración dependiente y el aumento fue bloqueado por La^{3+}, un bloqueador de hemicanales.
Conclusiones*:* Estrógeno y Tamoxifeno aumentan la permeabilidad de la membrana celular mediada por hemicanales en células ZR-75-1.

(146) EFECTO DEL COBRE SOBRE LAS REDES TRANSCRIPCIONALES DE GENES VINCULADOS AL METABOLISMO DE METALES EN CÉLULAS HepG2 (Copper effect over the transcriptional networks of genes related in the metal metabolism in HepG2 cells) **Pulgar R.,** Olivares F., Suazo M., González M. Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA-Universidad de Chile. rpulgar@gmail.com

Objetivo Se propuso evaluar si un aumento en la disponibilidad extracelular de cobre (Cu) afecta la abundancia de transcritos vinculados al metabolismo de Cu, hierro (Fe) y zinc (Zn) en células HepG2, y determinar si estas variaciones dependen del contenido y/o de las relaciones de abundancia que se establecen entre estos metales.
Metodologia: Mediante clonamientos se completó una librería de cDNA vinculados al metabolismo de metales en humanos, lo que permitió diseñar matrices de hibridación para examinar la abundancia de estos transcritos en células HepG2 expuestas a 100 µM de Cu:His o deferoxamina (DFO), y sus controles. Se determinó la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante fluorometría y el contenido intracelular de metales mediante espectrofotometría de absorción atómica.
Resultados: La exposición a Cu incrementó la abundancia de transcritos vinculados a su propio metabolismo junto con modificaciones en la abundancia de transcritos vinculados al metabolismo de Fe. Similares resultados fueron conseguidos en células expuestas a DFO. Esto se correlacionó con incremento en el contenido de Cu y disminución en el contenido de Fe, como con diferencias en las relaciones de abundancia de metales (Cu/Fe, Cu/Zn y Fe/Zn) entre tratamientos, los cuales mostraron en ambos casos un aumento en la acumulación de ROS.
Conclusiones: Se estableció una relación entre el metabolismo de Cu y Fe a nivel transcripcional. Esta relación depende del contenido intracelular de cada metal y de las relaciones de abundancia que se establecen entre ellos, como también de los niveles de acumulación de ROS.

(147) LA PROTEÍNA SORTING NEXINA 17 (SNX17) PARTICIPA EN LA DISTRIBUCIÓN POLARIZADA DEL RECEPTOR ASOCIADO AL RECEPTOR DE LDL (LRP1) (Sorting Nexin 17 (SNX17) participates in LRP1 polarized distribution) **Claudio E. Retamal**, Maribel Donoso, Pablo Sotelo, Guojun Bu* y María Paz Marzolo. Depto. Biología Celular y Molecular, Fac. Ciencias Biológicas, Centro de Regulación Celular y Patología (CRCP) Pontificia Universidad Católica de Chile, MIFAB. * WUSTL, USA. claudio.retamal@gmail.com

Objetivos: La proteína endosomal SNX17, al igual que otros miembros de su familia, participa en el tráfico intracelular de proteínas de membrana, como LRP o P-Selectina, en células no polarizadas. También se ha determinado, en LRP1, su motivo de interacción con SNX17, que corresponde al primer motivo NPXY. Trabajo previo de nuestro laboratorio sugiere que este motivo participa en la distribución basolateral del receptor. Nuestro objetivo es determinar el papel de SNX17 en el tráfico endocítico y la localización asimétrica del LRP1 en neuronas y células epiteliales.
Metodología: Análisis de la expresión, tráfico y localización del LRP1 en células polarizadas, mediante microscopía de fluorescencia, biotinilación de superficie y citometría de flujo. Esto se realizará en distintas condiciones de expresión de SNX17 y con diversas mutantes puntuales en el dominio del receptor que interacciona con SNX17.
Resultados: Mutaciones puntuales dentro del motivo de interacción del LRP1 con SNX17 afectan drásticamente el reciclaje y polaridad del receptor. Además, la localización polarizada de LRP requiere de la presencia de SNX17 funcional.
Conclusiones: Este trabajo muestra por primera vez el papel de una SNX en el tráfico polarizado de proteínas de superficie, en neuronas y epitelios. Muestra además que el reciclaje en células polarizadas es mucho más dependiente de señal y de la proteína que la reconoce, que en células no polarizadas.

(148) ETANOL ACTIVA A LA PROTEÍNA Gαs EN MEMBRANAS DE CEREBRO DE RATA (Etanol activates Gs alpha protein in rat brain membranes). [1,2]**Romo, X.,** [1]Zepeda, P., [1]Vidal, P., [1]Aguayo, L.G. [1]Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. [2]Facultad de Medicina, Universidad Católica de la Santísima Concepción. xromo@ucsc.cl

Objetivos*:* Trabajos anteriores han mostrado que aplicaciones agudas de etanol (10-100 mM) son capaces de potenciar la activación del receptor de glicina, siendo este efecto mediado por la interacción entre el loop intracelular del receptor con el heterodímero Gβγ. Además, como etanol es capaz de estimular la actividad adenililciclasa, nos planteamos como objetivo determinar si etanol puede activar a la proteína Gαs en extracto de membranas de cerebro de rata.
Metodología: Se prepararon extractos enriquecidos en membrana de cerebro de rata y luego se determinó el intercambio de [^{35}S] GTPγS, utilizando isoproterenol, un ligando para el receptor beta adrenérgico, o etanol. Luego se realizó la inmunoprecipitación de la proteína Gαs y se determinó el número de cuentas de ^{35}S unidas al inmunoprecipitado. En paralelo, se realizó un Western blot de los inmunoprecipitados para verificar la inmunoprecipitación de la proteína Gαs desde el extracto enriquecido en membrana.
Resultados: Mediante esta técnica se pudo demostrar, que similar a isoproterenol, etanol es capaz de activar a la proteína Gαs en membranas de cerebro de rata. (isoproterenol 100 μM : 2+/- 0,2 veces de aumento sobre el control, etanol 100 mM: 2,5 +/- 0,3 veces sobre el control).
Conclusiones*:* Etanol activa la proteína Gαs y de este modo es capaz de aumentar el nivel de Gβγ libre que interacciona con el canal de glicina. Sin embargo, se debería hacer un estudio mas detallado para determinar si esta activación es específica para Gαs o si además etanol puede activar otras proteínas G.
Financiado por NIAAA, FONDECYT y CONICYT.
Postdoctorado NIH.

(149) INHIBICION METABOLICA AUMENTA LA ACTIVIDAD DE HEMICANALES EN LA SUPERFICIE DE CELULAS HeLa TRANSFECTADAS CON LA CONEXINA 32 (Metabolic inhibition increases the activity of hemichannels in the surface of HeLa cells transfected with connexin32) **Helmuth A.[1]Sánchez**, Vitautas K.[2]Verselis, y Juan C. [1]Sáez. [1]Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago-Chile y [2]Department of Neurosciences, Albert Einstein College of Medicine, Bronx-NY, EEUU. hasanche@puc.cl

Objetivos. Recientes informes indican que muchas células expresan hemicanales (HCs) de conexina (Cx). Se desconocen condiciones fisiológicas y fisiopatológicas que inducen su apertura.
Estudiar si células HeLa transfectadas con Cx32 (HeLa-Cx32) forman HCs funcionales y si la inhibición metabólica (IM) o un medio con baja [Ca^{2+}] aumenta su la actividad de estos.
Metodos. El estado funcional de HCs fue evaluado por captación de bromuro de etidio (BrEt, 5μM), y registros de fijación de voltaje (modalidad "whole-cell"). Las células fueron expuestas a inhibidores metabólicos (300μM ácido iodoacético y 5ng/ml antimicina A) o incubadas en medio libre de Ca^{2+}.
Resultados. En HeLa-Cx32, IM incremento la velocidad de captación de BrEt ~2.3 veces comparado con células HeLa no transfectadas. Ademas, IM y el medio libre de Ca^{2+} incrementaron la velocidad de captación de BrEt ~2.0 y 1.8 veces, respectivamente. Dicho incremento fue bloqueado con La^{3+} (200μM). En células HeLa-Cx32 bajo IM, la velocidad de captación de BrEt se correlacionó directamente con los niveles de Cx32 (r^2 = 0.81). DTT (10mM), oATP (300μM) y capsazepina (10μM) no revirtieron el incremento de la captación de BrEt inducido por IM. Registros electrofisiológicos mostraron corrientes similares a las descritas para HCs-Cx32.
Conclusiones. Las células HeLa-Cx32 forman HCs y su actividad aumenta durante IM o en medio extracelular con baja [Ca^{2+}].

(150) EFECTO DE LEPTOMICINA B SOBRE LA DISTRIBUCIÓN SUBCELULAR DE FRUCTOSA-1,6-BIFOSFATASA Y FRUCTOSA-1,6-BIFOSFATO ALDOLASA (Effect of leptomycin B on subcellular distribution of FBPase and aldolase) **Spichiger, C.,** Yáñez, A.J. y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, U. Austral de Chile. cspichiger@yahoo.com

Objetivos: En el presente trabajo se estudió si el receptor de exportación nuclear CRM1/Exp1 participa en la translocación núcleo-citoplasma de fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) y fructosa-1,6-bisfosfato Aldolasa (Aldolasa). Se utilizó leptomicina B (LMB), droga que bloquea la capacidad de este receptor para translocar proteínas que contengan secuencias de exportación nuclear (NES)**.**
Metodología: Las líneas celulares fueron cultivadas en condiciones estándar. Los cultivos fueron tratados con LMB, en dosis de 10 ng/ml, por 24 horas. La distribución subcelular de FBPasa y Aldolasa fue analizada por inmunofluorescencia y microscopia confocal. Como control positivo del efecto de LMB se analizó la distribución subcelular de G-actina.
Resultados: Mediante análisis *in silico* encontramos una putativa NES canónica en FBPasa (74-83; LxxLxxxLxI), y no en Aldolasa. Sin embargo, en ambas enzima se observó una notoria acumulación nuclear en presencia de LMB a 10 ng/ml, comparada con la distribución en ausencia de la droga, en las distintas líneas celulares estudiadas.
Conclusiones: Se logró comprobar que la NES encontrada en FBPasa es funcional. Por otro lado, la acumulación nuclear de Aldolasa podría deberse a la existencia de una NES no canónica, o que su translocación y acumulación nuclear es mediada por un mecanismo particular en el cual su asociación a FBPasa podría ser necesaria. La participación de CRM1/Exp1 en el trafico núcleo-citoplasma de FBPasa y Aldolasa podría operar como un mecanismo fisiológico que regula el metabolismo celular.
(FONDECYT 1051122, 1051057; PBCT/CONICYT IPA 05; MECESUP AUS 0006; DID-UACH 2006-05)

(151) PRIVACIÓN DE GLUCOSA ACTIVA LA AUTOFAGIA MEDIADA POR CHAPERONAS EN CARDIOMIOCITOS
(Glucose deprivation stimulates chaperone-mediated autophagy in cardiac myocyte) **Barbra Toro**[1], Andrea Rodríguez[1], Ana Cuervo[2], Sergio Lavandero[1]. [1]Centro FONDAP CEMC, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile y [2]Albert Einstein College of Medicine. barbra_toro@yahoo.es

Objetivo La macroautofagia, microautofagia y autofagia mediada por chaperonas (AMC) son vías utilizadas para degradar proteínas intracelulares a través del lisosoma. Hemos descrito previamente que estrés nutricional activa la macroautofagia en los cardiomiocitos pero se desconoce si también estimula la AMC y su implicancia en la sobrevida.
Metodología: Cultivos primarios de cardiomiocitos se privaron de glucosa entre 6 y 24 h. La viabilidad se evaluó por FACS-yoduro de propidio. La activación de AMC se midió por inmunofluorescencia indirecta de LAMP-2A. Lisotracker se utilizó para marcar los lisosomas y medirlos por citometría. Los niveles de CHOP y BIP se determinaron por Western blot.
Resultados: La privación de glucosa estimuló la redistribución de los lisosomas que contienen LAMP-2A (proteína receptora lisosomal específica para AMC) desde el citosol a una región perinuclear a diferencia de los lisosomas marcados con LAMP-2C. Los niveles de CHOP y BIP (marcadores de estrés reticular) no se modificaron con la privación de glucosa. Además se observó una caída en la intensidad de fluorescencia de lisotracker a partir de las 12 h de privación que se asoció a una disminución de la viabilidad del cardiomiocito en presencia de inhibidores de la actividad lisosomal.
Conclusiones: La privación de glucosa activa la vía de AMC, haciendo inestables a los lisosomas pero sin producir estrés de retículo. La actividad degradativa del lisosoma parece ser fundamental para la sobrevida del cardiomiocito.
FONDAP 15010006

(152) RELEVANCIA DE LOS RESIDUOS DE SERINA 477 Y 481 DEL EXTREMO CARBOXILO-TERMINAL DEL RECEPTOR DE HDL SR-BI EN SU DISTRIBUCIÓN SUBCELULAR Y FUNCIONALIDAD EN CÉLULAS HEPÁTICAS
(Relevance of the carboxy-terminal Serine 477 and 481 residues of the HDL receptor SR-BI in its subcelullar distribution and function in liver cells) **Dania Valdovinos[1],** Verónica Quiñones[1], Andrea Leiva[1], Ludwig Amigo[1], Silvana Zanlungo[1], María Paz Marzolo[2] y Attilio Rigotti[1]. [1]Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina y [2]Centro de Regulación Celular y Patología y MIFAB, Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas; Pontificia Universidad Católica. dvaldovi@gmail.com

SR-BI es un receptor lipoproteico localizado en la superficie sinusoidal de las células hepáticas y es regulado postranscripcionalmente a través de la interacción entre su dominio carboxilo (C)-terminal y la proteína adaptadora PDZK1.
Objetivo: Evaluar la importancia de los residuos aminoacídicos Ser477 y Ser481 del dominio C-terminal de SR-BI sobre su distribución hepatocelular y actividad funcional.
Metodología: Generamos un adenovirus recombinante para SR-BI en que los residuos Ser477 y 481 fueron sustituidos por alanina (SR-BI$^{S477A/S481A}$), usando este adenovirus para transferencia génica en hepatocitos *in vitro* e *in vivo*.
Resultados: En células HepG2 e hígado del ratón, SR-BI$^{S477A/S481A}$ se localiza principalmente a nivel intracelular con menor expresión en la superficie celular. Además, SR-BI$^{S477A/S481A}$ presenta menos interacción con PDZK1, comparado con SR-BI silvestre. A similares niveles de sobrexpresión, SR-BI$^{S477A/S481A}$ mantuvo su actividad funcional como receptor de HDL en forma tan eficiente como SR-BI.
Conclusiones: Estos resultados indican que los residuos Ser 477 y 481 del dominio C-terminal de SR-BI están involucrados en su localización y/o tráfico en células hepáticas y podrían modular la actividad funcional intrínseca de este receptor lipoproteico.
Financiado por FONDECYT # 1070634.

(153) OLIGOMERIZACIÓN EN LA FAMILIA DE RECEPTORES DE VASOPRESINA (Oligomerization in the rat vasopressin receptor family) **Villanueva, C.I.**[#], Sarmiento, J.M.[#], Añazco, C.C.[#], Navarro J.[&], González C.B[#]. [#]Instituto de Fisiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. [&]Department of Neuroscience and Cell Biology, University of Texas Medical Branch. carolinavillanueva@uach.cl

Objetivo
Se ha demostrado en algunos tejidos la co-expresion de dos o más isoformas del receptor. Hemos demostrado que algunas de ellas son capaces de hetero-oligomerizar. En este trabajo se determinó si todas las isoformas son capaces de hetero-oligomerizar.
Metodología: Células CHO-K1 co-trasnfectadas en forma pasajera, con isoformas de receptores de AVP etiquetadas diferencialmente al extremo N-terminal con el epítope hemoaglutinina (HA), o al C-terminal con la proteína verde fluorescente (GFP). La inmunoprecipitación se realizó con anticuerpo policlonal dirigido contra GFP y la detección en *Western blot* del material coinmunoprecipitado con anticuerpo monoclonal dirigido al epítope HA.
Resultados: Estos ensayos permitieron determinar, además de la formación de homo-oligomeros de cada isoforma del receptor, la formación de hetero-oligómeros entre el receptor V1b y las isoformas V2 y V1a de receptores de AVP.
Conclusión: La isoforma V1b del receptor de AVP de rata, posee la capacidad de formar tanto homo como hetero-oligómeros con las isoformas V1a y V2. Nosotros postulamos que esta capacidad puede modular las propiedades funcionales de estos receptores.
Financiado por: FONDECYT 1060158

(154) EFECTO DE TRIPTASA SOBRE LA PROLIFERACIÓN DE FIBROBLASTOS DE LA MUCOSA BUCAL IRRADIADOS CON LUZ UVB (Tryptase increases proliferation of oral mucosa fibroblasts exposed to UVB-irradiation) **R Yefi[1,2],** Y Boza[1], MI Rudoplh[3], IG Rojas[1]. Facultades de Odontología[1], Farmacia[2] y Cs. Biológicas[3], Universidad de Concepción. grojas@udec.cl (Patrocinio: S. Gutiérrez)

Objetivos:
Se ha demostrado que triptasa aumenta la proliferación de fibroblastos vía el receptor activado por proteasas, PAR-2. En lesiones de labio inducidas por luz ultravioleta (UV) se observa un aumento de mastocitos (MCs) triptasa-positivos y fibroblastos. El objetivo de este estudio fue determinar si triptasa aumenta la proliferación de fibroblastos de la mucosa oral expuestos a luz UVB, y el efecto de UVB sobre la expresión de PAR-2.
Metodología: Fibroblastos de mucosa oral fueron irradiados con luz UVB (600J/m^2), e incubados con medio condicionado (SN) de MCs o triptasa por 6 a 24h. Se midió proliferación de fibroblastos mediante incorporación de ^{3}H-Timidina, y expresión de PAR-2 y GAPDH a nivel de RNAm por RT-PCR.
Resultados: La radiación UVB redujo significativamente la proliferación de fibroblastos en comparación con los controles ($P=0.005$, t-test). Por el contrario, fibroblastos irradiados que fueron incubados con SN de MCs o triptasa presentaron un aumento de la proliferación en comparación con los controles ($P<0.05$ Anova). Se encontró que los fibroblastos de la mucosa oral expresan RNAm para PAR-2, cuya expresión aumenta significativamente a las 9 horas post-irradiación con UVB ($P<0.006$).
Conclusiones: Los resultados mostraron que triptasa y medio condicionado de MCs aumentan la proliferación de fibroblastos irradiados con luz UVB. Este efecto podría estar mediado por la activación de PAR-2 por triptasa ya que su expresión aumenta con la exposición a UVB. Financiado por proyecto FONDECYT 1050581.

(155) MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA HEXOQUINASA EN CÉLULAS INDIVIDUALES CON ALTA RESOLUCIÓN TEMPORAL (Measurement of single-cell hexokinase activity with high temporal resolution) **Carla X. Bittner[1,2],** Valeria Larenas[1,2], Wolf Frommer[3], L. Felipe Barros[1]. [1]Centro de Estudios Científicos, Valdivia, [2]Universidad Austral de Chile y [3]Carnegie Institution, San Diego, USA. cxbittner@cecs.cl

Objetivos: Las técnicas actualmente disponibles para la medición de la actividad de la hexoquinasa (EC 2.7.1.1) comparten dos limitaciones importantes: baja resolución espacial (10^5 células) y baja resolución temporal (> 10 minutos), las cuales han dificultado conocer la contribución de tipos celulares específicos al flujo glicolítico tisular y han impedido el estudio de las fluctuaciones rápidas que ocurren por ejemplo en músculo y cerebro. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método capaz de evaluar la actividad de la hexoquinasa en células individuales y con alta resolución temporal.
Metodología: La concentración de glucosa en astrocitos de ratón en cultivo fue medida en tiempo real mediante un nanosensor FRET. La tasa de la hexoquinasa fue inferida de la tasa de desaparición de la glucosa que sucede a la interrupción aguda del transporte del azúcar. Un modelo analítico fue formulado para identificar las mejores condiciones para la medición de la tasa.
Resultados: La inhibición aguda del transporte de glucosa con citocalasina B causó una caída quasi-lineal y reversible de la concentración de glucosa. La tasa de caída fue inhibida por el bloqueador glicolítico iodoacetato y estimulada por el veneno mitocondrial rotenona.
Conclusiones: Los resultados indican que es posible estimar la tasa de fosforilación de la glucosa por hexoquinasa usando este nuevo método. Su resolución temporal (segundos) y espacial (micrómetros), lo hacen adecuado para el estudio del metabolismo energético a nivel celular.

(156) EL RECEPTOR DE RYANODINA, MEDIANTE MODIFICACIÓN REDOX, PARTICIPA EN LA SECRECIÓN DE INSULINA EN CÉLULAS β PANCREÁTICAS (Ryanodine receptor through redox modification participes in insulin secretion from pancreatic β cells) **Llanos P.,** Hidalgo C., Mears D. Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula e ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. pllanos@med.uchile.cl

Objetivos: La secreción de insulina en células pancreáticas (CβP) involucra una elevación de la concentración de Ca^{2+} intracelular ($[Ca^{2+}]i$), generada por entrada de Ca^{2+} a través de canales voltaje-dependientes. Se desconoce si esta entrada induce liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} (LCIC) desde depósitos intracelulares. La glucosa promueve la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que en otros sistemas celulares activan la LCIC mediada por RyR. Nuestro objetivo fue explorar en CβP la presencia y posible participación de RyR en la secreción de insulina, y analizar si ésta se debe a cambios en su estado redox inducidos por glucosa**.**
Metodología: Utilizando cultivos de islotes de Langerhans de ratas se estudió la expresión de RyR, la cinética de calcio y la secreción de insulina.
Resultados: Mediante inmunocitoquímica se encontró RyR en CβP colocalizando con calnexina, marcador de retículo endoplasmático. Mediciones de Ca^{2+} intracelulares mostraron que CβP poseen RyR funcionales. La inhibición del RyR suprimió la secreción de insulina. N-acetilcisteína, un agente antioxidante, disminuyó la secreción de insulina estimulada por glucosa y cafeína, sugiriendo que un medio intracelular reductor interfiere con este proceso al inhibir LCIC mediada por RyR.
Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que CβP poseen RyR requeridos para secretar insulina; los RyR, tras ser activados por ROS inducidas por glucosa, amplificarían las señales de entrada de Ca^{2+} mediante LCIC. (FONDAP 15010006, FONDECYT 1050571 y BECA AT-23060058)

(157) TRANSPORTE DE ADENOSINA EN CÉLULAS PROGENITORAS DE ENDOTELIO (Adenosine transport in endothelial progenitor cells) [1]Guzmán, E., [1]Sandoval, C., [1]Nova, E., [1]Saerle, A., [2]Vera, J.C., [2]Rivas, C., [1]Duran, D., [3]Sobrevia, L., [1]Lamperti, L. y **[1]Aguayo, C.** [1]Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Fac. de Farmacia. [2]Dpto.Fisiopatología, Fac. Cs Biológicas. Universidad de Concepción. [3] Lab. Fisiología Celular y Molecular (CMPL), CIM, Dpto. Obstetricia y Ginecología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. caguayo@udec.cl

Durante el infarto al miocardio ocurren cambios funcionales y estructurales del tejido cardiaco, tales como liberación de adenosina y movilización de células progenitoras de endotelio (EPC). No existen evidencias que demuestren una relación funcional entre adenosina y las EPC. El objetivo de este estudio fue determinar si EPC expresan transportadores equilibrativos de nucleósidos humanos en cultivo.
Metodología*:* Se realizó cultivos primarios de EPC aisladas desde sangre periférica. El transporte de [H^3]adenosina fue determinado en presencia y en ausencia de nitrobenziltioinosina (NBMPR). La detección del mRNA para hENT1 y hENT2 se realizó por reacción en cadena de polimerasa.
Resultados*:* Las EPC expresan solo mRNA para hENT1. La expresión de hENT1 en etapas tempranas de cultivo disminuye a medida que las EPC se diferencian hacia endotelio. Los valores IC_{50} para el transporte de adenosina fueron de 4 nM y 67 nM para EPC de 3 ó 15 días de cultivo.
Conclusión*:* Nuestros resultados sugieren que la captación de adenosina en EPC es mediada por un sistema sensible a concentraciones nM de NBMPR (hENT1), cuya expresión disminuye cuando las células se diferencian hacia endotelio. Estos resultados sugieren que las EPC juegan un papel en la regulación de la concentración extracelular de adenosina en condiciones patológicas.
Financiamiento: DIUC-UDEC 205.072.032-1.0, 205.072.031-1.0 y FONDECYT 1070865.

(158) REGULACIÓN DE MMP-2 (GELATINASA A) POR CTGF Y SU RELACIÓN CON FIBROSIS (Regulation of MMP-2 by CTGF and its relationship with fibrosis) **Droppelmann, C.A.,** Mezzano, V. y Brandan, E. Laboratorio de Diferenciación Celular y Patología CRCP, MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. cristiandroppelmann@gmail.com

Objetivos: Entender el proceso fibrótico que se observa en patologías musculares como la distrofia muscular de Duchenne (DMD), analizando la participación del factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF), un factor profibrótico que está sobrexpresado en lesiones fibróticas y que induce la síntesis de tejido conectivo, y de la enzima remodeladora de matriz extracelular, metaloproteinasa de matriz tipo 2 (MMP-2 o gelatinasa A).
Metodología: Se analizó la expresión de MMP-2 en fibroblastos 3T3, en respuesta a rCTGF, mediante RT-PCR semicuantitativo y zimografía. Además, se midió la actividad gelatinasa presente en los medios condicionados. Se obtuvo un clon de fibroblastos 3T3 knock-down para MMP-2 y se evaluó, mediante Western-blot, la presencia del marcador fibrótico fibronectina (FN) en respuesta a CTGF.
Resultados: CTGF regula la expresión de MMP-2 en forma bifásica observándose un mínimo de expresión de la enzima a 2,5 ng/ml de la citoquina. Esto pudo corroborarse con zimografía y medición de actividad. En células knock-down para MMP-2, se observó un incremento en la cantidad de FN con respecto al control. FN disminuyó a medida que se aumentó la concentración de CTGF, de manera análoga a lo que se ha observado con fibroblastos de ratones distróficos mdx.
Conclusiones: Estos resultados apuntan a que la regulación de la expresión y actividad de MMP-2 por CTGF podría estar jugando un importante papel en la génesis de las fibrosis, como la observada en DMD.
Financiamiento: Fondap-CRCP, MIFAB y Fondecyt 306091.

(159) INSULINA ESTIMULA INCORPORACIÓN DE GLUCOSA POR LIBERACIÓN DE Ca^{2+} (Insulin stimulates glucose uptake by Ca^{2+} release) **Ariel Contreras**[1], Amira Klip[2], Naria Oyanedel[1], Enrique Jaimovich[1], Sergio Lavandero[1]. [1]FONDAP CEMC. Facultades Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Medicina, Universidad de Chile. [2]The Hospital for Sick Children, University of Toronto, Canada. arielfbq@ciq.uchile.cl

Objetivo Insulina regula el metabolismo de carbohidratos en células musculares, controlando al transportador de glucosa GLUT4, entre otros. Nuestras evidencias indican que insulina aumenta el calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) por un mecanismo compuesto de un influjo rápido y una liberación de Ca^{2+}. Nuestro objetivo consistió en estudiar el papel del calcio en la incorporación de glucosa dependiente de insulina en el cardiomiocito.
Metodología: Cultivos primarios de cardiomiocitos se preincubaron con FLUO-3AM (sonda para Ca^{2+}). Las cinéticas del $[Ca^{2+}]_i$ fueron registradas por microscopia confocal. La movilización del GLUT4 se evaluó por coinmunofluorescencia. La incorporación de glucosa se evaluó mediante un ensayo de pulso/caza, utilizando [^{3}H]-2DG en medio de cultivo con y sin Ca^{2+}.
Resultados: Insulina (0,1-100 nM) aumentó el $[Ca^{2+}]_i$ en forma rápida (1s) y transitoria (25-30 s), alcanzando un máximo de 214 ± 31% [(ΔF/F)*100]. Esta señal se bloqueó con genisteina (inhibidor tirosina kinasas) y BAPTA-AM (quelante intracelular de Ca^{2+}). Insulina (10 nM por 5 min) estimuló la migración del GLUT4 a la superficie. Genisteina, BAPTA-AM, un péptido secuestrador de las subunidades βγ de proteína G (Adβ-ARKct), U-73122 (inhibidor de fosfolipasa C), LY294002 (inhibidor de PI3K) y 2-APB (antagonista del receptor de IP_3) inhibieron parcial (medio sin Ca^{2+}) o totalmente (medio con Ca^{2+}) la incorporación de glucosa dependiente de insulina.
Conclusión: Insulina aumenta la incorporación de glucosa por liberación de Ca^{2+} desde reservorios intracelulares a través de la vía transduccional IR-Gβγ-PI3K-PLC-IP_3.
FONDAP 15010006

(160) ALTERACIÓN DE LA TERMOGÉNESIS ADAPTATIVA EN RATONES DEFICIENTES EN FXR (Impaired adaptive thermogenesis in FXR-deficient mice) **Daniel Duran-Sandoval**[1,2], Bertrand Cariou[2], Emmanuel Bouchaert[2], Mouaadh Abdelkarim[2], Julie Dumont[2], Sandrine Caron [2], Gérard Torpier[2], Jean-Charles Fruchart[2], Folkert Kuipers[3], Remy Burcelin[4] and Bart Staels[2]. [1]Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile. [2]Institut Pasteur de Lille, Inserm, U545, Université de Lille 2, France. [3]CLDM, Laboratory of Pediatrics, University-Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands. [4]CNRS-UMR 5018, Université Paul Sabatier, Hopital Rangueil, France. dduran@udec.cl (Patrocinio: J.C. Vera)

Objetivos: El objetivo del presente trabajo es evaluar el rol del receptor nuclear para ABs, Farnesoid X Receptor (FXR), en la termogénesis murina.
Metodología: Se midió la temperatura corporal y el gasto energético por calorimetría indirecta en ratones deficientes en FXR (FXR-/-) en condiciones basales y sometidos a estrés. Además cuantificamos la expresión de genes relacionados a termogénesis (UCP1 y DIO2) en tejido adiposo pardo (BAT).
Resultados: FXR no se expresa en BAT, excluyendo una acción directa de FXR en la termogénesis murina. Sin embargo, el ARNm para UCP1 y DIO2 aumentaron en BAT de ratones FXR-/- machos pero no hembras, mientras que la concentración plasmática de ABs fueron mayores en ratones FXR-/- hembras que en machos. Aunque la deficiencia de FXR no altera el consumo de energía basal, ella modula la termogénesis adaptativa. Ratones FXR-/- fueron intolerantes al frío mostrando una entrada acelerada en torpor durante el ayuno. Asociado a su menor masa de tejido adiposo, los ratones FXR-/- exhiben una caída acelerada de los combustibles metabólicos que impide la termogénesis conducida por UCP1 en estas condiciones de estrés.
Conclusión: Estos resultados identifican a FXR como un nuevo modulador de la termogénesis adaptativa en ratones.

(161) TRANSPORTADORES DE VITAMINA C EN CULTIVO PRIMARIO DE CÉLULAS DE SERTOLI (Vitamin C transporters in Sertoli cells primary cultures) **Rodrigo Maldonado**, Constanza Angulo, Maite Castro, Marco A. Maureira, Alejandro Yañez, Juan Carlos Slebe, Ilona I. Concha. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. conchagrabinger@uach.cl

Antecedentes: La falta de vitamina C en la dieta causa descamación del túbulo seminífero e infertilidad. Su acceso a la región adluminal y luminal del túbulo está restringido por la barrera hemato-testicular formada por células de Sertoli. La vitamina C atraviesa las membranas plasmáticas mediante dos sistemas: los transportadores de vitamina C y sodio (SVCTs) y los transportadores facilitativos de hexosas (GLUTs).
Objetivo: Analizamos la expresión y función de transportadores de vitamina C en células de Sertoli en cultivo.
Metodología: Desarrollamos cultivos primarios de células de Sertoli obtenidos de testículo de rata adulta.
Resultados: Las células en cultivos resultaron positivas para el marcador de células de Sertoli, WT1, y negativas para el marcador de células germinales, protamina. Mediante análisis de inmunofluorescencia se analizó la expresión de los dos sistemas de transportadores de vitamina C. Observamos la presencia de GLUT2, GLUT4, GLUT8, SVCT1 y en forma destacable, una abundante inmunoreacción para GLUT1, GLUT3 y SVCT2. Los análisis de expresión fueron corroborados mediante ensayos funcionales. Finalmente, considerando la alta expresión de SVCT2 en estas células, estudiamos la segregación de este transportador realizando transfecciones agudas con el vector pEGFP-SVCT2 en cultivos formando monocapa.
Conclusiones: Las células de Sertoli expresan transportadores de vitamina C funcionales. La presencia de estos sistemas de transporte en la barrera hemato-testicular cumpliría una función fundamental en la adquisición de esta vitamina hacia el túbulo seminífero, ayudando a mantener un microambiente adecuado para la espermatogénesis.
(FONDECYT1060135)

(162) AtUTr1 Y AtUTr3 SON TRANSPORTADORES DE UDP-GLUCOSA QUE RESPONDEN A ESTÍMULOS QUE INDUCEN ESTRÉS EN EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO (AtUTr1 and AtUTr3 are UDP-Glucose transporters that respond to stress in the endoplasmic reticulum) Francisca Reyes, Gabriel León y **Ariel Orellana**. Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal, Centro de Biotecnología Vegetal, U. Andrés Bello. aorellana@unab.cl

Objetivo Determinar si los transportadores de *Arabidopsis thaliana* AtUTr1 y AtUTr3 son transportadores de retículo endoplasmático (RE) encargados de suministrar el sustrato para la reglucosilación de proteínas en el RE, proceso fundamental en el plegamiento de proteínas en el RE.
Metodología: La localización subcelular de los transportadores se analizó utilizando fusiones con proteínas fluorescentes y microscopía confocal. La expresión de los transportadores se determinó utilizando Northern blot y PCR en tiempo real. Determinamos el efecto *in planta* de la ausencia de los transportadores, utilizando mutantes en estos genes.
Resultados: AtUTr1 y AtUTr3 se localizan en RE y en RE/Aparato de Golgi, respectivamente. Ambos aumentan su expresión en condiciones en las que se produce estrés en el RE. Las mutantes de los transportadores no poseen un fenotipo morfológico evidente; sin embargo, presentan menor incorporación de UDP-Glucosa hacia los organelos en que estos se localizan. La mutante en AtUTr1 tiene activada en forma constitutiva la respuesta a proteínas mal plegadas, indicando que en el RE de éstas existe acumulación de proteínas mal plegadas.
Conclusiones: Describimos el primer transportador de UDP-Glucosa de RE (AtUTr1) capaz de suministrar UDP-Glucosa para la reglucosilación de glicoproteínas mal plegadas y mostramos que AtUTr3 es capaz de transportar UDP-Glucosa tanto hacia el RE como al aparato de Golgi.
Financiado por los proyectos FONDECYT 1070379 y Núcleo Milenio PCB-P02-009F

(163) TRICLOSÁN INHIBE LA PRODUCCIÓN DE UROQUINASA ESTIMULADA POR TNF-α EN FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS (Triclosan inhibits TNF-α-stimulated urokinase production in human gingival fibroblasts) **Arancibia R[1],** Cáceres M[1], Martínez J[1], Gonzalez R[1], Smith PC[2]. INTA[1] y Facultad de Odontología[2], Universidad de Chile. Rodrigo.Arancibia@bioquimica.cl

Objetivos: Triclosán es un agente antiséptico ampliamente utilizado en pastas dentales, sin embargo, estudios recientes han sugerido que este componente puede tener un papel en el control de la inflamación. En el presente estudio hemos analizado el efecto de triclosan sobre la producción de uroquinasa (uPa), una serín proteasa involucrada en la remodelación tisular, en fibroblastos gingivales (FG).
Metodología*:* Se utilizaron cultivos primarios de FG de origen humano. Las células fueron estimuladas con TNF-α y se utilizaron distintos inhibidores de la actividad de MAPquinasas y de NF-KB. La translocación de NF-KB fue analizada por inmunofluorescencia. La activación de las vías ERK, JNK y AP-1 fueron evaluadas por western-blot. La producción de uroquinasa fue analizada por zimografía y western-blot.
Resultados*:* TNF-α estimuló la producción de uPA en forma dosis dependiente y este efecto demostró ser dependiente de las vías JNK, NF-KB y en menor medida de la vía ERK. Triclosán inhibió la actividad y producción de uPA estimulada por TNF-α en forma dosis dependiente.
Conclusiones: Podemos concluir que triclosan tiene un potente efecto inhibidor en la producción de uPA y la activación de plasminógeno en FG de origen humano, y por lo tanto en la remodelación del tejido conectivo gingival.
Financiado con Proyecto Fondecyt 1061065 (PCS).

(164) LOS NIVELES DE CONEXINA43 AUMENTAN EN FIBRAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS RECIÉN AISLADAS, PROCESO BLOQUEADO POR IL-6 (Levels of connexin43 increase in freshly isolated skeletal muscle fibers, process inhibited by IL-6) **Luis A. Cea**, Manuel A. Riquelme, Juan C. Sáez. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. lacea@puc.cl

Objetivo. La interlequina-6 (IL-6) bloquea el acoplamiento celular mediado por canales de uniones en hendidura en células dendríticas y microglías. Además, la IL-6 es secretada de manera basal en músculo esquelético y aumenta durante la actividad muscular. A su vez, la expresión de Cx43 aumenta transitoriamente durante la regeneración muscular. En este trabajo se estudió si los niveles de Cx43 aumentan en miofibras esqueléticas mantenidas en cultivo primario sin actividad contráctil y si la IL-6 previene dicha respuesta.
Metodología. Miofibras del músculo *extensor digitorium brevis* de rata adulta se aislaron mediante digestión enzimática. Las fibras se sembraron en medio DMEM/F12 suplementado con 10% SFB y 24 h después se trataron con IL-6 (50ng/mL). Posteriormente, la reactividad de Cx43 se midió mediante análisis de Western blots e inmunofluorescencia.
Resultados. Los niveles de la Cx43 aumentaron progresivamente en el tiempo. A las 48 y 72 h después del aislamiento se detectaron formas de menor migración electroforética relacionadas a formas fosforiladas de la Cx43. El tratamiento con IL-6 evitó el incremento de los niveles de Cx43. A las 48 y 72 h de cultivo se detectó placas de Cx43 entre las células satélites y las fibras musculares, las cuales no se visualizaron en fibras tratadas con IL-6.
Conclusiones. La IL-6 reprime el aumento de Cx43 y previene el heteroacoplamiento entre miofibras y células satélite inducido por falta de innervación y/o actividad en fibras musculares esqueléticas.

(165) EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE LOS LIGANDOS DE NOTCH EN CÉLULAS DENDRÍTICAS (Differential expression of Notch ligands on dendritic cells) **Pablo Espejo[1]**, Daniela Sauma[1], Mario Rosemblatt[1,2], María Rosa Bono[1]. [1]Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, U. de Chile. [2]Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB y U. Andrés Bello. pabloespejo80@gmail.com

Objetivo En los últimos años se ha vinculado a la vía de señalización Notch con la polarización de la respuesta inmune. En este trabajo evaluamos el efecto de estímulos inductores de respuestas Th1 y Th2 en la expresión de ligandos de Notch, Delta-4 y Jagged-2 en células dendríticas (DCs). Se analizó además, la influencia de IL-12 en la expresión de Delta-4**.**
Metodología: La expresión de Delta-4 y Jagged-2 en DCs fue evaluada por PCR en tiempo real. Las DCs fueron estimuladas con LPS, CpG, Tóxina del cólera y prostaglandina E2 en presencia o ausencia de un anticuerpo bloqueador de IL-12.
Resultados: Los datos obtenidos muestran que DCs expuestas a LPS y CpG presentan una fuerte inducción de Delta-4 mientras que la toxina del cólera y prostaglandina producen sólo inducción de Jagged-2. No se observó efecto de IL-12 en la expresión de Delta-4.
Conclusión Los datos indican que a nivel de mRNA, Delta-4 se induciría con estímulos Th1 por una vía independiente de IL-12 y Jagged-2 se induciría específicamente con estímulos Th2. Adicionalmente, se sugiere que el direccionamiento a Th1 por la vía Notch, podría constituir un mecanismo redundante de polarización de la respuesta inmune. (FONDECYT 1060834/1060253).

(166) LA POTENCIACIÓN EN LA PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS BACTERIANOS INDUCIDA POR COMPLEJOS INMUNES REQUIERE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR FcγRIII EN CÉLULAS DENDRÍTICAS (Immune complex-induced enhancement of bacterial antigen presentation requires Fcγ Receptor III expression on dendritic cells) **Andrés Herrada[1]**, Francisco Contreras[1], Jaime Tobar[1], Rodrigo Pacheco[1] y Alexis M. Kalergis[1,2]. [1]Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Facultad de Medicina. P. Universidad Católica de Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile. akalergis@bio.puc.cl

Objetivos. Previamente demostramos que Salmonella Typhimurium (ST), es capaz de sobrevivir en células dendríticas (DCs), interfiriendo con su capacidad de activar células T. Por el contrario, al dirigir la bacteria a receptores Fcγ en la DC, ésta es degradada y sus antígenos son presentados a células T. Sin embargo, dado que la DC expresa el receptor activador FcγRIII y el inhibidor FcγRIIB, decidimos evaluar el receptor responsable de recuperar la presentación de antígenos.
Metodología. Se obtuvieron DCs de ratones C57BL/6 y knockout para cada receptor y células T de ratones transgénicos OT-I y OT-II. Las DCs fueron pulsadas con ST libre u opsonizada con IgG, e incubadas con células T. La activación de éstos se determinó mediante la expresión de CD69 y la secreción de IL-2.
Resultados. Observamos que ST opsonizada es degradada en el lisosoma y sus antígenos son presentados a células T cuando es internalizada a través del receptor activador FcγRIII. Por el contrario, la bacteria opsonizada internalizada vía el receptor inhibidor FcγRIIB no es eficientemente procesada y presentada por la DC. Adicionalmente sólo se observó activación de células T cuando fueron cocultivadas con DCs FcγRIIB$^{-/-}$ pulsadas con ST opsonizada.
Conclusiones. Estos resultados sugieren que el FcγRIII es el principal receptor involucrado en la destinación de ST opsonizada al lisosoma por DCs, y su posterior presentación a células T.
Financiamiento: Fondecyt 1070352, INCO e ICM.

(167) MODULACIÓN *IN VITRO* POR ANTICUERPOS DE LA INTERACCIÓN CALRETICULINA DE *Trypanosoma cruzi*/ C1q DEL COMPLEMENTO HUMANO (*In vitro* modulation by antibodies of the *Trypanosoma cruzi* calreticulin/human C1q complement component) **Galia Ramírez**[1], Carolina Valck[1], Lorena Aguilar[1], Nandy López[1], Carolina Ribeiro, Viviana Ferreira[2], Arturo Ferreira[1]. [1]Programa de Disciplinario de Inmunologia, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile, Santiago, Chile, [2]Department of Biochemistry, Center for Biomedical Research, U. of Texas, Health Science Center, Tyler, TX, United States. galiaram@uchile.cl

Objetivo: La ruta clásica del sistema del complemento es inhibida por la unión de Calreticulina de *Trypanosoma cruzi* (TcCRT) a C1q, como probable estrategia evasiva de la respuesta inmune. C1q ha sido involucrada en la infectividad del parásito y colocaliza con TcCRT en su superficie. Aquí proponemos inhibir, *in vitro*, la unión TcCRT/C1q, mediante anticuerpos completos o fragmentos $F(ab')_2$ anti-TcCRT.
Metodología: Se generaron IgG purificadas por afinidad en una columna de Sefarosa- Proteína G a partir de un suero de conejo anti-TcCRT. Éstas fueron fragmentadas con pepsina para obtener fragmentos F(ab')2 anti-TcCRT. Las IgG y sus fragmentos fueron utilizadas en un ensayo de ELISA para modular la unión de C1q a TcCRT.
Resultados: De acuerdo a lo esperado, las IgG completas potenciaron la unión de C1q a TcCRT y los fragmentos $F(ab')_2$, ambos en concentraciones fisiológicas, disminuyeron drásticamente la interacción.
Conclusiones: La union de C1q a TcCRT es susceptible de ser inhibida, *in vitro*, mediante el uso de fragmentos $F(ab')_2$ anti-TcCRT, constituyendo herramientas potencialmente útiles en modelos *in vivo*, para disminuir la infectividad del parásito.
Agradecimientos Beca CONICYT de doctorado, Proyecto Bicentenario de Anillos de Investigación ACT29.

(168) LA VIDA MEDIA DE INTERACCIÓN TCR:pMHC MODULA LA ACTIVACIÓN DIFERENCIAL DE MAPKs Y LA ACTIVIDAD EFECTORA DE CÉLULAS T CD8$^+$ CITOTÓXICAS (The half-life of TCR:pMHC interaction modulates the differential activation of MAPKs and effector response of cytotoxic CD8$^+$ T cells) **Erick Riquelme[1]**, Rodrigo Pacheco[1], Leandro Carreño[1] y Alexis M. Kalergis[1,2]. [1]Núcleo Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Facultad de Medicina. P. U. Católica de Chile. akalergis@bio.puc.cl

Objetivos. La activación de células T CD8$^+$ (CTLs), resulta de la interacción del TCR con complejos péptido-MHC (pMHC), la que desencadena cascadas de señalización que implican MAPKs. Nuestros resultados previos sugieren que la $t_{1/2}$ de interacción TCR/pMHC ($t_{1/2}$-TCR/pMHC) es clave para la activación de CTLs. Debido a que aún se desconoce si la $t_{1/2}$-TCR/pMHC modula vías de señalización durante la activación del CTL y si puede regular su actividad efectora, hemos estudiado la implicancia de este parámetro en las vías de señalización intracelular y en la respuesta de CTLs.
Metodología. Se evaluó la secreción de citoquinas (por ELISA) y capacidad de eliminar tumores tanto como la activación de MAPKs (por citometría intracelular) de CTLs provenientes de ratones transgénicos ante ligandos de distinta $t_{1/2}$-TCR/pMHC, tanto *in vitro* como *in vivo*, usando células de melanoma murino pulsadas con péptidos o transfectadas con distintas variantes mutantes de Ovoalbúmina que confieren diferentes $t_{1/2}$-TCR/pMHC.
Resultados. Estos ensayos indicaron que sólo las $t_{1/2}$-TCR/pMHC óptimas son capaces de inducir una activación de MAPKs con secreción de citoquinas efectoras y la consecuente inhibición del crecimiento tumoral.
Conclusiones. Nuestros resultados sugieren que la $t_{1/2}$-TCR/pMHC modula la estimulación de las vías que conducen a la activación de CTLs, regulando así la inducción de una respuesta efectora eficiente contra tumores.
Financiamiento: Fondecyt 1070352, 1050979 y 3070018, IFS A/3639-1 y B/3764-1, INCO e ICM.

(169) LINFOCITOS T REGULADORES AFECTAN EL RESULTADO DE LA TERAPIA CELULAR BASADA EN CÉLULAS DENDRÍTICAS EN PACIENTES CON MELANOMA (Regulatory T cells affect the DC-mediated immunotherapy outcome in melanoma patients) **Gabriela Segal**, Mercedes López, Alexandra Ginesta, Flavio Salazar-Onfray. Universidad de Chile, ICBM, Laboratorio Inmunología Antitumoral.

Objetivo: Recientemente finalizamos un estudio clínico fase II en pacientes con melanoma. En este estudio, tratamos a 36 pacientes con melanoma etapa IV, con células dendríticas (DC) pulsadas con un lisado de melanoma. El 50% de los pacientes tratados (18/36) mostraron respuestas de hipersensibilidad retardada (DTH positiva) contra este lisado. Los pacientes que desarrollaron DTH, tuvieron un promedio de sobrevida 3 veces superior al grupo que no desarrolló DTH. Las respuestas inmunológicas contra tumores son reguladas por subpoblaciones de LTCD4+ reguladores (LTR) que actúan inhibiendo distintos niveles de la respuesta inmune antitumoral. En este trabajo evaluamos el rol que cumplen estas subpoblaciones en la respuesta de los pacientes tratados con inmunoterapia celular.
Metodología: Se caracterizó las subpoblaciones de LTR mediante la expresión de CD4, CD25 y foxp3, para la subpoblación de LTR centrales y la co-expresión de CD4/IL10 y CD4/TGF para la subpoblación de LTR periféricos, mediante citometría de flujo y microscopia confocal. Además, se evaluaron las características funcionales de estas subpoblaciones mediantes ensayos de proliferación y liberación ^{51}Cr.
Resultados: Nuestros resultados muestran que los pacientes no respondedores presentan un aumento significativo en la proporción de LTR periféricos que expresan TGF, en comparación con pacientes respondedores que mantienen una proporción constante de LTR centrales y LTR periféricos.
Conclusiones: Estas observaciones nos permiten concluir que los LTR periféricos que expresan TGF afectan las respuestas clínicas de los pacientes tratados con inmunoterapia celular y que esta citoquina podría ser un blanco terapeútico útil en pacientes no respondedores.
Proyecto Fondecyt 1060935 y Núcleo de Inmunología e Inmunoterapia.

(170) EXPRESIÓN DE UROQUINASA Y SU RECEPTOR (uPAR) EN PLAQUETAS HUMANAS: EVENTUAL PAPEL EN LA FIBRINOLISIS (Expression of urokinase and its receptor (uPAR) in human platelets: its possible role in fibrinolysis) **Torres, E.,** Sáez CG., Matus V., Panes O. y Mezzano, D. Dpto. Hematología-Oncología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. evorytorres@gmail.com (Patrocinio: E.O. Campos)

Objetivos: La presencia de uroquinasa (uPA) en plaquetas sugiere un papel en la fibrinolisis. Sin embargo, las bases moleculares no están aclaradas. Trabajos recientes demuestran la capacidad de las plaquetas para neosintetizar diversas proteínas. Proponemos demostrar la presencia de mRNA de uPA y su receptor (uPAR) en plaquetas, y definir si sintetizan estas proteínas.
Metodología: Se aislaron plaquetas de 10 individuos sanos, determinando su pureza por microscopía, citometría de flujo y RT-PCR. Se evaluó presencia de mRNA de uPA y uPAR en plaquetas en reposo y activadas mediante RT-PCR. Se usó inmunoprecipitación y microscopía confocal para detectar uPAR.
Resultados: Detectamos mRNA de uPAR en plaquetas después de 45 minutos de ser estimuladas. Asimismo, demostramos la presencia de uPAR en plaquetas activadas. No hemos detectado mRNA de uPA en plaquetas, pero sí su actividad fibrinolítica.
Conclusiones: Estos resultados sugieren que las plaquetas sintetizan uPAR, aunque su demostración está pendiente. La función de uPA en membranas y plaquetas intactas sugiere que estaría mediada por captación y unión a uPAR desde el plasma u otras células, ya que no parece que las plaquetas sinteticen la enzima, como sugieren nuestros resultados. El destino del complejo uPA/uPAR podría ser la endocitosis y degradación o la expresión de actividad fibrinolítica, según la demanda funcional a que estén sometidas las plaquetas en fisiología o patología.

(171) ROL DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN Wnt NO-CANÓNICA EN LA MORFOGÉNESIS DE ESPINAS DENDRÍTICAS (Role of non-canonical Wnt signaling in dendritic spine morphogenesis) **Iván Alfaro,** Daniel Karmelic y Nibaldo C. Inestrosa. Centro FONDAP de Regul. Celular y Patología y MIFAB, Fac. de Cs. Biológicas, P. U. Católica de Chile. ialfaro@puc.cl.

Objetivos: : Recientemente demostramos que el ligando *Wnt-5a* es capaz de promover la diferenciación postsináptica incrementando la densidad de clusters de PSD-95 en neuronas hipocampales. En sinapsis excitatorias, el clustering de PSD-95 ocurre durante la formación y maduración de espinas dendríticas, por lo que nos propusimos determinar si *Wnt-5a* induce el aumento en la formación y maduración de espinas dendríticas en neuronas hipocampales in vitro y las vías de señalización involucradas.
Metodología: : Cultivos de neuronas hipocampales de rata embrionaria de 12 DIV, fueron tratados con medios condicionados enriquecidos en ligando wnt5a y luego usados para ensayos de Western blot, inmunofluorescencia y microscopia confocal de fluorescencia.
Resultados: : Neuronas hipocampales incubadas con el ligando *Wnt-5a* presentan un incremento en la densidad de espinas y filopodios dendríticos. En estas células demostramos que *Wnt-5*a actúa como un ligando no canónico que induce transientes de calcio y que activa las proteínas quinasas CaMKII y JNK independiente de la acumulación de β-catenina. Además, neuronas que sobreexpresan ROR2, un receptor de Wnt asociado con la traducción de vías Wnt no canónicas, muestran una excesiva formación de protusiones dendriticas filopoidales.
Conclusión: : En este trabajo hemos determinado que *Wnt-5a* es un ligando Wnt no canónico en neuronas hipocampales que estimula la formación de espinas dendríticas en neuronas hipocampales. Actualmente estamos evaluando el citoesqueleto de actina postsináptico como blanco probable de los efectos sinaptotróficos de la vía Wnt no canónica.
Supported by FONDAP-Biomedicine (Nº13980001) and Millennium Institute for Fundamental and Applied Biology (MIFAB)

(172) MODIFICACIÓN MOLECULAR DE N-CADHERINA SINÁPTICA INDUCIDA POR LA ACTIVACIÓN DE LA VÍA WNT EN NEURONAS DE HIPOCAMPO (Molecular modification in synaptic N-cadherin induced by Wnt signalling activation in hippocampal neurons) **Sebastián W. Belmar,** Marcela Colombres y Nibaldo C. Inestrosa. Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Inst. Milenio MIFAB y Fac. de Ciencias Biológicas, P. U. Católica de Chile. ninestrosa@bio.puc.cl

Objetivo: El complejo de adhesión cadherina/catenina participa en importantes eventos neuronales, tales como sinaptogénesis y plasticidad sináptica. De hecho, la activación sináptica se correlaciona con una fuerte y estable adhesión sináptica mediada por N-cadherina. Por otro lado, la vía de señalización Wnt juega un papel clave en el desarrollo del sistema nervioso central. Nuestro interés es estudiar el posible papel modulador de la vía Wnt sobre las propiedades bioquímicas de N-cadherina y la regulación del complejo cadherina/catenina.
Metodología: Cultivos de neuronas hipocampales de embriones de rata, de 3-4 semanas, fueron incubados con medios condicionados enriquecidos en ligandos *Wnt* y luego sometidos a ensayos bioquímicos y microscopía de fluorescencia.
Resultados: La activación de la vía Wnt aumenta la formación de dímeros de N-cadherina resistentes a degradación proteolítica por tripsina e induce un cambio en la solubilidad de los monómeros de N-cadherina. Junto a esto, la incubación con ligando *Wnt5a* no canónico indujo un aumento de puntas de N-cadherina en neuritas hipocampales. Además, un incremento en la asociación del complejo cadherina/catenina con actina fue evidenciado tras la incubación con ligando Wnt.
Conclusiones: Los resultados sugieren que la activación de la vía de señalización Wnt favorece una fuerte adhesión sináptica mediada por N-cadherina y modula la asociación entre los componentes del complejo cadherina/catenina, en cultivos maduros de neuronas hipocampales.
Financiado por FONDAP Nº 13980001, MIFAB y Beca pre-doctoral CONICYT para MC.

(173) EL RECEPTOR FRIZZLED-1 MEDIA LA PROTECCIÓN DEL LIGANDO WNT3A DE LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR Aβ EN CÉLULAS PC12 Y NEURONAS DE HIPOCAMPO (Frizzled-1 mediates the protective effect of Wnt3a against the toxicity of Aβ in PC12 cells and hippocampal neurons) **Marcelo A. Chacón** e Inestrosa N.C. Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP) y MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. mchacon@bio.puc.cl

Objetivos: Hemos reportado que el ligando Wnt3a protege a neuronas de hipocampo de la toxicidad inducida por fibras A□. En este trabajo estudiamos el efecto protector de Wnt3a de la toxicidad inducida por oligómeros A□ e identificamos al receptor Frizzled involucrado en este evento.
Metodología: Por RT-PCR e inmunohistoquímica se determinó la expresión y localización de Fz1 y Fz2 en el cerebro de rata. Se realizaron experimentos de ganancia o pérdida de función de Fz1 en células PC12 y neuronas de hipocampo. La reducción de MTT, la actividad de caspasa-3 y la morfología neuronal fueron los parámetros utilizados para estudiar el efecto protector del ligando Wnt3a.
Resultados: Encontramos una amplia expresión de fz y mostramos que Fz1 y Fz2 se expresan en la formación hipocampal. Oligómeros Aβ indujeron la muerte de células PC12 y de neuronas de hipocampo, efecto prevenido parcialmente por Wnt3a. Al sobreexpresar Fz1, Wnt3a indujo una mayor actividad de la vía Wnt y una mayor protección de la neurotoxicidad inducida por oligómeros A□. Al contrario, una baja expresión de Fz1 disminuyó el efecto de Wnt3a sobre la vía Wnt y sobre su efecto neuroprotector.
Conclusiones: Los resultados obtenidos en esta tesis muestran que el receptor Fz1 participa en la acción neuroprotectora de Wnt3a, apoyando la idea que Fz1 es el receptor del ligando Wnt3a.
Financiado por FONDAP Nº 13980001, Instituto Milenio MIFAB y Beca de Apoyo a la Tesis Doctoral AT-4040214

(174) INVOLVEMENT AND INTERPLAY OF GLUTAMATE AND $GABA_A$ RECEPTORS IN β-AMYLOID PEPTIDE TOXICITY. **Paula-Lima, A.C**.[1,3], Brito-Moreira, J.[1], Almeida, V.[1], Panizzutti, R.A.[2], Ferreira, S.T.[1]. [1]Instituto de Bioquímica Médica and [2]Departamento de Anatomia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil; [3]Centro Fondap de Estudios Moleculares de la Célula, F. Medicina, U. Chile. (Patrocinio: C. Hidalgo)

Alzheimer´s disease (AD) is an important health problem worldwide. Accumulation and aggregation of β-amyloid peptide (Aβ) in the brains of affected individuals play pivotal roles in the pathophysiology of AD. Aβ aggregates attack the synapses and are neurotoxic, affecting memory and leading to dementia and death. Aβ neurotoxicity has been related to over-activation of glutamate receptors, but the mechanisms by which Aβ aggregates promote excitotoxicity are still not fully elucidated. Here, we show that oligomeric and fibrilar Aβ aggregates increase the concentration of excitatory aminoacids (L-glutamate and D-serine) in the conditioned medium of primary neuronal cultures before inducing cell death. Thus, the synaptic dysfunction and neuronal damage induced by Aβ aggregates may be partially related to these effects. Clinically accepted treatments capable of interrupting the progression of AD do not exist to date, and several novel therapeutic approaches are currently under investigation. Accordingly, we studied as well the activation of inhibitory $GABA_A$ receptors as a neuroprotective strategy to counteract the neuronal damage caused by Aβ aggregates in primary neuronal cultures. Our results suggest that activation of the $GABA_A$ receptors may counteract the abnormal excitability induced by overactivation of glutamate receptors, blocking cell death induced by Aβ aggregates. Considering that the use of combined therapeutic strategies has been increasingly supported for AD, the neuroprotective approaches reported here may contribute to future advances in AD treatment.

(175) ROL DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE SONIC HEDGEHOG (Shh) EN EL DESARROLLO DEL FENOTIPO NEURONAL DOPAMINÉRGICO EN EL CEREBRO MEDIO: PROLIFERACIÓN O ESPECIFICACIÓN DE PROGENITORES? (Role of the Shh signalling pathway in the development of the midbrain dopaminergic neuronal phenotype: Proliferation or specification of progenitors?) Gustavo Cerda†, Gisela Reinchisi†, Ariadna Mendoza-Naranjo¥, Cristián Pereda¥, **Claudio Cortés**† y Verónica Palma†. †Center for Genomics of the Cell, Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias. ¥Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas. Universidad de Chile. gustafro@gmail.com

Objetivo: El morfógeno Shh participa en la formación del sistema nervioso central (SNC), destacándose su rol en la diferenciación del tubo neural ventral durante la embriogenesis. En este trabajo intentamos elucidar el papel de la vía de señalización de Shh en el desarrollo de neuronas dopaminérgicas en el cerebro medio ventral.
Metodología: Análisis en embriones mutantes de pez cebra para distintos componentes de la via de Shh combinado con experimentos de inhibición farmacológica y sumado a ensayos de rescate, evaluándose en cada caso proliferación y diferenciación dopaminérgica.
Experimentos de pulso y caza con BrdU en embriones de ratón; electroporación de explantes mesencefálicos (ganancia ó pérdida de función) seguido de evaluación por FACS de proliferación y diferenciación de precursores.
Resultados: La función de la vía de señalización de Shh en el desarrollo del fenotipo neuronal dopaminérgico ocurre en una ventana temporal limitada del desarrollo: el momento de la proliferación de los progenitores.
Conclusión: Proponemos que Shh modula el número de neuronas dopaminergicas en el cerebro medio al modular la generación de progenitores dopaminérgicos durante un período acotado del desarrollo, siendo esta propiedad conservada en la embriogénesis de los vertebrados.
Proyecto financiado por: Iniciativa Milenio N° P0639F y Fondecyt N°1070248.

(176) ANOMALÍAS MORFOLÓGICAS EN NEURONAS COLINÉRGICAS SEPTALES EN LA ENFERMEDAD DE NIEMANN-PICK TIPO C (NPC) (Cholinergic abnormalities in the brain of NPC-/- mice) **Figueroa AD**[1], Lazo OM[1], Klein A[2,3], Alvarez AR[2], Zanlungo S[3], Bronfman FC[1]. [1]Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología (CRCP), Depto. de Fisiología, Fac. de Ciencias Biológicas. [2]Depto. de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. [3]Departamento de Gastroenterología, Fac. de Medicina. Pontificia U. Católica de Chile. adfigueq@uc.cl

La enfermedad de NPC se caracteriza por una progresiva neurodegeneración producida por mutaciones en la proteína NPC1, lo que provoca una acumulación de colesterol y esfingolípidos en la ruta endosomal. Las neurotrofinas son requeridas para la sobrevida del sistema nervioso (SN). Estas se unen a sus receptores y señalizan de manera dependiente de balsas lipídicas y del tráfico endocítico (ambos afectados en NPC). Las neuronas colinérgicas del SNC se ven afectadas en diversas neuropatologías como la enfermedad de Alzheimer y dependen de neurotrofinas para su sobrevida y diferenciación. **Objetivo**: Caracterizar las neuronas colinérgicas septales de ratones NPC1-/- para utilizarlas como modelo de estudio de neurodegeneración y alteración de la señalización neurotrófica. **Metodología**: Técnicas inmunológicas para marcadores colinérgicos y de neurodegeneración en cerebros de ratón NPC1-/-. **Resultados**: Observamos acumulación de colesterol y fosforilación de la proteína Tau en células colinérgicas de ratones NPC1-/-. También se observa que las neuronas colinérgicas están redondeadas e hipertróficas y con una reducción en la densidad local de neuritas; y que existe una reducción de la inervación colinérgica en la capa molecular externa del *Giro Dentado*. Nos encontramos estudiando si existen alteraciones en la señalización neurotrófica en ratones NPC1 usando técnicas de lesión de la vía septo-hipocampal e infusión de neurotrofinas con bombas osmóticas.
Financiado por ARA PARSEGHIAN MRF, FONDECYT1040799 (FCB), CRCP.

(177) EL KNOCK-DOWN DE IRP1 PROTEGE A CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA DE LA MUERTE CELULAR (IRP1 Knock-Down protects neuroblastoma cells from cell death) **Natalia Mena,** Enrique Armijo, Daniel Borquez and Marco T. Núñez. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile & Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnnlogía, Santiago, Chile. mnunez@uchile.cl

Objectives Intracellular iron levels are controlled postranscriptionally by the activity of regulatory proteins named Iron Regulatory Protein 1 and 2 (IRPl and IRP2). Investigations have demonstrated that the normal homeostasis of iron is sustained by IRP2. IRP1, but not IRP2, is activated by oxidative stress generated by the accumulation of iron, which produces a vicious circle of increased total intracellular iron content and stress. Here, we investigated the hypothesis that IRP1 is a protein, whose cellular function would be the induction of cellular death in states of oxidative stress induced by iron accumulation.
Methodology: SHSY-SY human neuroblastoma cells were differentiated into tyrosine hydroxylase(TH)-positive cells and transfected with a plasmid carrying shRNA targeted to IRP1, in order to diminish the expression of the protein. Transfected cells were then exposed to different concentrations of oxidants for 24 hours in order to evaluate the resistance to oxidative stress-mediated death.
Outcomes IRP1 knock-down resulted in decreased cell iron uptake, decreased divalent metal transporter 1 expression and increased resistance to cell death induced by iron, 6-OHDA, LPS and rotenone.
Conclusion IRP1 can be considered a protein that induces cell death and thus it is an interesting target to induce a decrease in iron accumulation, oxidative stress and cell death.
Supported by FONECYT 1070840 and by grant ICM P05-001-F to the Institute for Cellular Dynamics and Biotechnology.

(178) CORRELACIÓN ENTRE LA MEMORIA ESPACIAL Y EXPRESIÓN DE C-JUN Y C-FOS EN RATAS GESTADAS EN MADRES HIPOTIROXINÉMICAS (Correlation of spatial memory with the expression of c-Jun and c-Fos in rats gestated in hypothyroxinemic mothers) **Opazo C**., Alarcón L., Lizana R., Mora S, Riedel C. Universidad Andrés Bello.

Objetivos: Se ha descrito que el cuadro de hipotiroxinemia materna provoca daño cognitivo en la progenie, se desconoce los mecanismo moleculares que lo subyacen. Nuestro objetivo es correlacionar el daño fisiológico con marcadores moleculares de aprendizaje y memoria como c-Jun y c-Fos.
Metodología: Ratas machos adultas gestadas en madres hipotiroxinémicas (GMH) fueron sometidas al test de Morris Water Maze. Posteriormente fueron sacrificadas y se preparó homogenizado total de telencéfalo. Del homogenizado total se aisló la fracción nuclear y posteriormente se analizó por Western blot la expresión de c-Jun y c-Fos y sus formas activadas c-Jun fosforilado y c-Fos fosforilado. Se analizó por inmunofluorescencia y microscopia confocal la localización de PSD-95.
Resultados: Análisis del test de Morris Water Maze mostró que las ratas GMH tienen una latencia mayor en el aprendizaje que usa memoria espacial. Este fenotipo se correlacionó con una disminución del 40% de c-Jun fosforilado de la fracción nuclear de ratas GMH. Se observó, que la marca correspondiente a PSD-95 se distribuyó en áreas neuronales más gruesas que la distribución de PSD-95 de ratas control.
Conclusiones: Ratas GMH presentan lentitud en el aprendizaje que hace uso de la memoria espacial; disminución de la expresión de c-Jun fosforilado y una distribución distinta de PSD-95 en la neurona. La hipotiroxinemia materna es causante de cambios moleculares en el cerebro que pueden dar cuenta de los mecanismos que subyacen al daño cognitivo.

(179) DETERMINANTES CELULARES Y MOLECULARES DE LA INTERNALIZACIÓN DEL RECEPTOR DE NEUROTROFINAS p75 (Cellular and molecular determinants of p75 neurotrophin receptor internalization) **José I Parraguez**[1], Claudia A Escudero[1], Fernanda Lisbona[1], M. Paz Marzolo[2], Francisca C Bronfman[1]. Centro FONDAP de Regulación Celular y Patología (FONDAP), [1]Departamento de Fisiología, [2]Departamento de Biología Celular y Molecular. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La señalización mediada por p75 participa en diferentes procesos neuronales como apoptosis, sobrevida, extensión axonal y plasticidad sináptica. Cómo p75 logra esta diversidad de respuestas es materia de debate. Un proceso que podría regular la señalización de p75 es su internalización y tráfico intracelular, puesto que los receptores pueden señalizar desde endosomas y la internalización determina la temporalidad de la señal. Nuestro **objetivo** es entender cuales son los determinantes de la internalización y tráfico endocítico del p75 para estudiar como estos afectan su señalización. Nuestra **metodología** consiste en ensayos de inmunoendocitosis de células PC12 e hipocampales y dominantes negativos de adaptadores de clatrina, RabGTPasas-GFP y p75-mutantes para secuencias de internalización. Nuestros **resultados** sugieren que la internalización del p75 depende de una secuencia YXXθ en su cola citosólica sugiriendo la participación del adaptador de clatrina AP2 y no así del adaptador EPS15. Además, a distintos tiempos de internalización, se observa una escasa colocalización del p75 con Rab5, sugiriendo que el paso del p75 por endosomas tempranos a endosomas de reciclaje (donde p75 se acumula) es muy rápido. Dado que EPS15 participa en la endocitosis de receptores ubiquitinados, y que la ubiquitinación de receptores es un mecanismo para destinar receptores a lisosomas, nuestros datos apuntan a un mecanismos de internalización mediado por clatrina que destina rápidamente al p75 a endosomas de reciclaje evitando su degradación.

(180) REGULACIÓN OPUESTA DE HEMICANALES Y CANALES DE UNIONES EN HENDIDURA EN ASTROCITOS CORTICALES DE RATONES NPC1 (Opposite regulation of hemichannels and gap junction channel in mouse NPC1 cortical astrocytes) **Pablo J. Sáez*[¶],** Natalia Vega*, Manuel Riquelme*, Andrés Klein[&], Silvana Zanlungo[&], Juan C. Sáez*. [¶]Departamento de Ciencias Fisiológicas*, Departamento de Gastroenterología[&], Pontificia Universidad Católica de Chile. pjsaez@uc.cl

Objetivos: Niemann-Pick tipo C (NPC) es una enfermedad neurodegenerativa ocasionada principalmente por mutaciones en la proteína NPC1 y caracterizada por desórdenes en la reserva intracelular de lípidos, afectando al sistema nervioso central (SNC). En condiciones de reposo, los astrocitos expresan hemicanales (HC) y canales de uniones en hendidura (CUH). En astrocitos, los HCs participan en comunicación paracrina y los CUH permiten el tamponamiento espacial de sustancias nocivas para las neuronas. En este estudio evaluamos el estado funcional de HCs y CUH de astrocitos corticales de ratones NPC1.

Metodología: Se obtuvo astrocitos corticales de ratones neonatos silvestres ($NPC1^{+/+}$), heterocigotos ($NPC1^{+/-}$) y "knock out" ($NPC1^{-/-}$) para NPC1. El estado funcional de los HCs y de los CUH se evaluó utilizando las técnicas de captación de colorante desde el medio extracelular y transferencia de colorante entre células vecinas, respectivamente.

Resultados: Los astrocitos $NPC1^{-/-}$ presentaron menor actividad de CUH (~40%) que astrocitos de ratones $NPC1^{+/-}$ (~60%) y que astrocitos $NPC1^{+/+}$ (~80%). En astrocitos $NPC1^{-/-}$ la permeabilidad celular de la membrana sensible a La^{3+}, un bloqueador de HCs, fue alrededor del doble respecto de los astrocitos $NPC1^{+/+}$.

Conclusiones: En astrocitos $NPC1^{-/-}$, la función de tamponamiento espacial está disminuida, lo que junto a la respuesta de permeabilización celular a través de HCs, podría aumentar la susceptibilidad neuronal a agentes estresantes, como el glutamato y péptido β-amiloide, contribuyendo a la neurodegeneración.

(181) CORRELACIÓN DE ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL CON ESTADO DE ACETILACIÓN DE ELEMENTOS REGULADORES DE LA FAMILIA DE GENES *IROQUOIS* (Correlation of transcriptional activity with acetylation in regulatory elements of the iroquois gene family) **Pablo Cabrera[1]**, Carmen G Feijóo[1, 2], José Luis Gomez-Skármeta[3], Miguel L Allende[1]. [1]CGC, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, [2]Universidad Andrés Bello, [3]Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España. awkanes@gmail.com

Objetivo

Los genes *iroquois* (*irx*) codifican para una familia de homeoproteínas que tienen una alta conservación en la estructura genómica entre vertebrados. Por medio de análisis *in silico* seguido de ensayos funcionales, se determinó la existencia de secuencias reguladoras que explican, en parte, dicha conservación. Nuestro objetivo actual es correlacionar los ensayos funcionales con el estado de acetilación de los elementos reguladores analizados.

Metodología: Realizamos una inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) utilizando un anticuerpo anti-histona H4 acetilada en lisados de embriones en diferentes estadios de desarrollo del pez cebra, abarcando desde las 6 hasta 96 hpf (horas post fertilización).

Resultados: Hemos encontrado que para varios de los elementos reguladores estudiados existe una correlación entre su actividad y su estado de acetilación en los distintos estadios del desarrollo estudiados.

Conclusiones: Mediante los ensayos funcionales diseñados fue posible la identificación de elementos reguladores. Debido a que en dichos ensayos se altera el contexto, la correlación con el estado de acetilación de la histona H4, nos permitió determinar su actividad endógena en distintos estadios de desarrollo. Así nos es posible postular la participación de HATs (histona acetil-transferasas) en la regulación de los genes *irx*.

(182) ANÁLISIS CUANTITATIVO DE COMPACTACIÓN CELULAR DURANTE LA GASTRULACIÓN EN *Cynolebias* Y LA MORFOGÉNESIS ASIMÉTRICA DEL ÓRGANO PARAPINEAL EN *Danio rerio* (Quantitative analysis of cellular compaction during gastrulation in *Cynolebias* and asymmetric morphogenesis of the parapineal organ in *Danio rerio*) **Covacevich Y.**, Pereiro, L., Lemus C.G., Concha M.L., Härtel S. Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ycovacev@dcc.uchile.cl

Objetivos*:* La compactación celular es un fenómeno frecuente durante la morfogénesis. Células involucradas aumentan sus superficies de contacto, generando una estructura que minimiza espacios intercelulares. En peces teleósteos fenómenos de compactación se reconocen a diferentes escalas de organización embrionaria y acompañan diversos cambios morfológicos. En este trabajo presentamos una herramienta para reconocer y analizar patrones de compactación durante la reagregación en *Cynolebias* y durante la migración asimétrica del órgano parapineal en *Danio rerio.*

Metodología*:* Se estudiaron cigotos de *Cynolebias* inyectados con gap43-GFP (membrana) y H2B-RFP (nuclear) y transgénicos flh::GFP *Danio rerio* mediante microscopía confocal durante el desarrollo embrionario. La relación señal/ruido fue mejorado mediante deconvolución y las estructuras celulares se segmentaron con un modelo de superficies activas interconectadas. Superficies activas interconectadas establecen fuerzas atractivas entre limites celulares y permiten el análisis de patrones de organización celular.

Resultados*:* En *Cynolebias*, la detección temprana de compactaciones celulares conlleva a la identificación de estructuras diferenciadas como el blastoporo, la notocorda o la placa precordal. En *Danio rerio* se encontró una compactación celular ovoidal que antecede la migración asimétrica del órgano parapineal.

Conclusiones: Superficies activas interconectadas permiten el acceso cuantitativo a patrones de compactación en sistemas multicelulares y permiten la clasificación y parametrización de fenómenos de compactación.

Financiamiento: FONDECYT 1060890.

(183) IDENTIFICACIÓN DE GENES TEMPORAL Y ESPACIALMENTE REGULADOS EN EMBRIONES DE *Drosophila* (Identification of genes temporally and spatially regulated in *Drosophila* embryos) **Patricia Hanna**, Alejandro Zúñiga, Christian Hödar y Verónica Cambiazo. Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica INTA-Universidad de Chile & Center for Genomics of the Cell (CGC). patricia.hanna@gmail.com

Objetivos: En trabajos anteriores identificamos genes sobreexpresados en gástrulas de Drosophila. El objetivo del presente trabajo fue determinar sus perfiles de expresión temporal y espacial durante la embriogénesis de Drosophila**.**
Metodología: Se determinaron los perfiles de expresión temporal de 268 genes mediante hibridación en macroarrays utilizando sondas de cDNAs obtenidas de embriones de estados 2-12 del desarrollo. Los genes con cambios significativos de expresión entre los estados estudiados fueron sometidos a análisis estadísticos y de agrupamiento jerárquico. La distribución espacial de 21 transcritos fue determinada mediante ensayos de hibridaciones in situ utilizando sondas de RNA.
Resultados: Los genes diferencialmente expresados (N=98) segregaron en 5 grupos que se distinguen por sus patrones de expresión temporal. Estos 5 patrones varían en el momento y duración de su nivel máximo de expresión. La detección, mediante hibridaciones *in situ*, de los transcritos de 21 genes desconocidos o poco caracterizados en *Drosophila* revela que su expresión es altamente dinámica en los estados analizados, circunscribiéndose a estructuras particulares del embrión, y a grupos de células que experimentan cambios de forma y posición durante la gastrulación.
Conclusiones: Los patrones restringidos de expresión espacio-temporal de los genes analizados sugieren que ellos actuarían como determinantes y/o marcadores del destino de grupos particulares de células en el embrión de *Drosophila*. Estos resultados constituyen una primera etapa en nuestro objetivo de posicionar nuevos genes en vías de patronamiento previamente caracterizadas.
Fondecyt 1050235.

(184) EFECTO DE LA DISRUPCIÓN DE LOS GENES *kal1a, kal1b, fgfr1* Y *pkr2* EN EL DESARROLLO DE LAS CÉLULAS ENDOCRINAS LIBERADORAS DE HORMONA GONADOTROPINA (GnRH) (Effects of the disruption of *kal1a, kal1b, fgfr1* y *pkr2* genes in the development of endocrine GnRH cells) **Joaquín Letelier**, J.Astudillo, F.Araya y K.Whitlock. CNV, Universidad de Valparaíso. jletelier@cnv.cl

Objetivos: Analizar y determinar las bases celulares de los defectos causados por la disrupción de los genes *kal1a, kal1b, fgfr1* y *pkr2* en el desarrollo del hipotálamo y la glándula pituitaria.
Metodología: Usando como modelo el pez cebra (*Danio rerio*), se realizaron experimentos de knockdown mediante el bloqueo de la traducción de mRNA durante el desarrollo temprano con oligonucleótidos modificados (morfolinos). Además, se utilizaron técnicas de hibridación in situ e inmunocitoquímica para la detección de subpoblaciones celulares.
Resultados: La disrupción de los genes *kal1a* y *fgfr1* afecta las células GnRH endocrinas, pero no las neuromodulatorias. Además, el morfante para *kal1a* presenta anomalías en el desarrollo del sistema olfatorio, la pituitaria anterior esta reducida y las células del hipotálamo que expresan isotocina no están presentes. Esto último sugiere que el hipotálamo podría estar afectado en pacientes con síndrome de Kallmann (hipogonadismo hipogonadotrópico asociado a anosmia).
Conclusiones Debido a las fallas en el desarrollo del eje HPG observadas en pacientes con síndrome de Kallmann, se postula que la falta de células GnRH endocrinas puede estar relacionada a defectos en el desarrollo de tejido hipotalámico, lo cual no ha sido descrito anteriormente. Actualmente se pretende investigar el rol del receptor de prokineticina 2 (*pkr2*) en el desarrollo de este eje, ya que la mutación de este gen en ratón genera un fenotipo similar al observado en individuos con Kallmann.

(185) ESTUDIO DEL PATRÓN DE EXPRESIÓN DEL GEN RIC8 DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN *Xenopus* (Expression pattern study of the gene Ric8 during *Xenopus* embryo development) **Maldonado R.,** Bertín A, Leniz I., Izaurieta P., Hinrich M.V., Torrejón M. y Olate J. Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción. jolate@udec.cl

Objetivos: Hasta la fecha se han descrito dos procesos celulares regulados por Ric8. En *Caenorhabditis elegans*, Ric8 potencia la vía de señalización de la $G\alpha_q$ y participa en la secreción de neurotransmisores y desarrollo embrionario. En *Drosophila melanogaster*, Ric8 regula el proceso de división celular asimétrica y la localización de $G\alpha_i$ en la membrana plasmática. Recientemente, hemos clonado, desde ovocito de *Xenopus laevis*, el gen que codifica para la proteína Ric8 (xRic8). El objetivo del presente trabajo es estudiar la expresión y regulación de xRic8 durante el desarrollo embrionario en *Xenopus.*
Metodología*:* Utilizando embriones en distintos estadios de *Xenopus laevis*, se analizó temporal y espacialmente la expresión de xRic-8 a través de las técnicas de RT-PCR e hibridización *in situ.*
Resultados: Los resultados muestran la presencia del mensajero para xRic8 desde el estadio de huevo sin fertilizar hasta el estadio 42, con expresión marcada a nivel del sistema neural, somitos y craniofacial. También hemos clonado el homólogo de Ric-8 en *Xenopus tropicalis*, para realizar estudios comparativos de regulación de la expresion de este gen durante el desarrollo.
Conclusiones: Estos hallazgos apoyan estudios realizados en ratón por otros investigadores e indican que xRic8 cumpliría un rol importante desde etapas tempranas del desarrollo embrionario.
Proyecto CONICYT, Anillo Nº PBCT ACT-44.

(186) IDENTIFICACIÓN DE GENES REGULADOS POR REST/NRSF EN EL ECTODERMO DE *Xenopus laveis*. **Andro Montoya,** Lorena Santa María, Manuel Kukuljan. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. kukuljan@neuro.med.uchile.cl

Objetivo: se ha propuesto que la función del represor transcripcional REST/NRSF es fundamental para el correcto desarrollo del sistema nervioso. La pérdida de función de REST/NRSF en el embrión temprano de *Xenopus laevis* se asocia a la alteración del patrón del ectodermo y subsecuente diferenciación neuronal. El análisis bioinformático en genomas de mamíferos revela cientos de genes potencialmente regulados por REST/NRSF; adicionalmente la regulación por REST/NRSF podría depender del tipo celular y etapa de desarrollo. Lo anterior dificulta identificar las vías a través de las cuales este factor de transcripción controla el desarrollo neural temprano. El objetivo de este trabajo es identificar de una manera no dirigida los genes regulados por REST/NRSF en el ectodermo de Xenopus y probar su papel en el desarrollo temprano.
Métodos: construcción de genotecas de sustracción con RNA obtenido de ectodermo aislado ("animal caps") de embriones con pérdida de función de XREST/NRSF mediante la expresión de una forma dominante negativa inducible de XREST/NRSF; validación de la sustracción; secuenciación de clones; validación biológica mediante PCR cuantitativo e hibridación in situ.
Resultados y conclusiones: se ha identificado un conjunto reducido de genes que exhiben un aumento significativo (mayor de 2 veces) de su expresión en el ectodermo al inducirse la pérdida de función de XREST/NRSF. Se incluyen genes de función conocida, no identificados previamente como blancos de REST/NRSF (ej. XMAN-2 – descrito como inhibidor de la señalización de TGF-ß) y genes de función desconocida en relación con el proceso de diferenciación temprana, como XIRG.
ACT 47, ICM-P04-068F

(187) EXPRESIÓN DE GENES CARDÍACOS POR HIPOXIA Y LA ACTIVACIÓN DE hif-1α (Cardiac gene expression by hypoxia and the activation of hif-1α) **Juan A. Ulloa**[2], Ariel E. Reyes[1]. [1]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales. [2]Doctorado en Biociencias Moleculares, Universidad Andrés Bello. ariel.reyes@ udp.cl

Objetivo: El corazón es uno de los primeros órganos en formarse durante el desarrollo embrionario, este proceso está determinado por genes regulados espacial y temporalmente en el embrión, sin embargo, estos genes de expresión embrionaria pueden reexpresarse en la etapa adulta, por ejemplo en un infarto. Esta reexpresión es responsable del remodelamiento cardíaco. Durante el infarto se produce una zona hipóxica, que activa al factor transcripcional inducible por hipoxia-1α (HIF-1α). HIF-1α tiene genes blancos, que permiten la adaptación a hipoxia. En nuestro laboratorio postulamos que la reexpresión de genes cardíacos embrionarios inducido por hipoxia, es dependiente de HIF-1α.
Metodología: Se utilizó al pez cebra como modelo de estudio. Se realizaron experimentos en embriones y animales adultos sometidos a hipoxia por 6, 12, 24 h. Posteriormente se realizó una cinética de expresión de genes cardíacos usando RT-PCR. En animales adultos se realizó extracción de mRNA total de corazón, para realizar RT-PCR semicuantitativo.
Resultados: El análisis de los RT-PCR de embriones de pez cebra muestra que el mRNA del factor de transcripción *hand*, un gen cardíaco, se expresa desde 18 hasta 120 hpf, alcanzando un máximo a las 48 hpf. Experimentos realizados en peces adultos sometidos a hipoxia muestran que el mRNA de *hand*, se reexpresa en respuesta al estímulo de hipoxia, efecto que noobservado en animales control.
Conclusiones: La hipoxia promueve la reexpressión genes embrionarios cardiacos en animales adultos, este remodelamiento sería dependiente de *hif*-1α.

(188) PARTICIPACIÓN DE Sox2 EN LA REGULACIÓN DEL NÚMERO DE CÉLULAS Y ESTADO DE DIFERENCIACIÓN EN EL PRIMORDIO DE LA LÍNEA LATERAL DEL PEZ CEBRA (Participation of Sox2 in the regulation of the cell number and differentiation state in the lateral line primordium of zebrafish) **Cristian Undurraga**, Pedro Hernández, Francisco Olivari, Pablo Sandoval y Miguel Allende. CGC, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Objetivo Evaluar como participa Sox2 en la proliferación, apoptosis y diferenciación de las células que componen el primordio de la línea lateral del pez cebra.
Metodología: Se inyectaron huevos de pez cebra con morfolino para Sox2. Se realizaron análisis de Western blot y niveles de apoptosis (TUNEL) en los primordios de estos embriones. Se contó el número de células totales al inicio y al final de la migración del primordio, células proliferando (BrdU) y cantidad de células ciliadas presentes en los neuromastos depositados por el primordio.
Resultados: Se observó que la inhibición de Sox2, vía inyección de morfolino, afecta los niveles de apoptosis pero no el número de células, en contraste con los controles, que muestran una disminución progresiva de sus células. También se analizó la proliferación de células en los embriones inyectados, donde no se encontraron diferencias significativas con respecto a los controles. Se vió una disminución en el número de células ciliadas en los neuromastos de embriones morfantes, que se correlaciona con una disminución en la expresión de Atonal encontrada también en estos embriones morfantes.
Conclusiones: El fenotipo morfante, producido en la línea lateral por la inhibición de Sox2, provoca cambios a nivel del número de células y del proceso de diferenciación, en las células del primordio que formarán la línea lateral del pez cebra.

(189) LA EXPRESIÓN DE RhoGEF3, UN POTENCIAL REGULADOR DEL CITOESQUELETO DE ACTINA, ES TEMPORAL Y ESPACIALMENTE RESTRINGIDA DURANTE EL DESARROLLO DE *Drosophila* (Developmentally restricted expression pattern of RhoGEF3, a potential regulator of *Drosophila* actin cytoskeleton) **Alejandro Zúñiga**, Verónica Cambiazo. Lab. de Bioinformática y Expresión Génica INTA-U. de Chile & Center for Genomics of the Cell (CGC). jano@inta.cl

Objetivo: La señalización por GTPasas de la familia Rho y sus activadores, GEF (Guanine Exchange Factor), juega un papel fundamental en la morfogénesis epitelial del embrión de *Drosophila*. Nuestro objetivo es estudiar la dinámica de expresión de un nuevo GEF, RhoGEF3, durante el ciclo de vida de *Drosophila* y su participación en procesos de morfogénesis celular.
Metodología: La abundancia y distribución del transcrito *RhoGEF3* fueron determinadas por QPCR e hibridaciones *in situ*. La función de la proteína fue examinada mediante su sobre-expresión en células S2 de *Drosophila*, experimentos de intercambio de GTP *in vitro* y análisis de embriones mutantes con perdida de función por escisión imprecisa de elementos-P.
Resultados: *RhoGEF3* es diferencialmente expresado en embriones tempranos y en grupos de células que sufren procesos de morfogénesis epitelial. Análisis funcionales indican que su proteína tiene la capacidad de reorganizar el citoesqueleto de actina, provocando cambios en la morfología celular. En la actualidad nos encontramos realizando ensayos *in vitro* para determinar su especificidad por diferentes GTPasas y caracterizando 120 potenciales líneas mutantes.
Conclusión: Nuestros resultados indican que la proteína RhoGEF3 participaría en la regulación espacial y temporal de la señalización mediada por GTPasas. Esperamos determinar su relevancia en la reorganización del citoesqueleto de actina durante la embriogénesis de *Drosophila* y generar evidencias para entender los mecanismos celulares que sustentan la remodelación del epitelio embrionario.
Fondecyt 1050235.

(190) DIVERSIDAD NUCLEOTÍDICA EN GENES CANDIDATOS INVOLUCRADOS EN EL CONTROL GENÉTICO DE CALIDAD DE MADERA EN *Pinus pinaster* (Nucleotide diversity in candidate genes involved in the genetic control of wood quality in *Pinus pinaster)* **Cancino, L.**[1,2]; Lepoittevin, C[2]; Plomion, C[2] y Herrera, R[1]. 1. IBVB, UTalca, Chile & 2. INRA, Francia. lcancino@utalca.cl

Objetivo: Las propiedades de la madera varían entre genotipos y dentro de las especies. Su variabilidad es heredable y asociada a genes involucrados en formación de madera. El objetivo de este trabajo fue determinar la diversidad nucleotídica de genes implicados en la formación de madera de *Pinus pinaster*.
Metodología: Se utilizaron seis poblaciones de *Pinus pinaster* distribuidos a lo largo de la Costa Atlántica de Francia. Utilizándose un total de 42 individuos para la caracterización de cinco genes candidatos. Estos genes fueron seleccionados a partir de mutantes de *A. thaliana* para pared celular; luego se diseñaron partidores, se amplificaron y secuenciaron todos los fragmentos obtenidos. El ADN se extrajo de megagametofito (tejido haploide). Todos los fragmentos fueron analizados y alineados para la identificación de variabilidad nucleotídica (SNPs), además de INDEL.
Resultados: Se estudiaron las regiones codificantes-no codificantes 3-5´ UTR para los 5 genes estudiados (Cobra, korrigan, THE1, BOTERO, MUR1). Se obtuvo una frecuencia promedio de 1SNPs por cada 62 bp (incluidas todas la regiones), concentrando aproximadamente un 70% de mutaciones en la región no codificante para estos genes. También fue posible establecer el número de haplotipos por cada gen secuenciado, que en promedio fue de ocho.
Conclusiones: Esta estrategia que considera por un lado selección de genes candidatos y la utilización de SNPs es una herramienta importante para futuros estudios de asociación.
Agradecimientos: Proyecto Alpha Gema-UE y Dirección Investigación U Talca.

(191) FORMACIÓN *IN VITRO* DE UN CARTÍLAGO ESTRUCTURADO PARA LA REGENERACIÓN DE LESIONES OSTEOCONDRALES (*In vitro* formation of a structured cartilage for the regeneration of osteochondral lesions)
Jaramillo, P., *Montoya, F., García, M.A., Nualart, F. Departamento de Biología Celular, *Departamento de Cirugía, Universidad de Concepción, Concepción.

Objetivos: El cartílago articular es avascular y aneural lo cual limita su capacidad de autoregeneración frente a daño tisular. Existen técnicas quirúrgicas como la microfractura, pero sólo generan un restablecimiento parcial de la función. Analizamos el potencial condrogénico de células troncales mesenquimáticas (CTM) y comparamos la organización de la matriz hialina formada *in vitro* con la matriz hialina del cartílago articular normal. Evaluamos el tratamiento de lesiones osteocondrales mediante microfractura.
Metodología: Se establecieron cultivos de CTM de médula ósea de conejo. La diferenciación condrogénica fue evaluada mediante el cultivo en *pellets* celulares. Utilizando técnicas inmunohistoquímicas asociadas a microscopía confocal y triple marcaje, analizamos la expresión de marcadores de cartílago hialino y la deposición de la matriz cartilaginosa. La respuesta tisular al tratamiento por microfractura también fue analizada.
Resultados: Las CTM positivas para CD44, CD90 y vimentina, se diferencian al linaje condrogénico al ser cultivadas en un sistema de *pellets*. Utilizando microscopía confocal y triple marcaje, demostramos que los pellet de cartílago expresan colágeno tipo II y agrecán. Además, son positivos a azul alcian, safranina y pardo bismark. La sumatoria de las tinciones muestra la formación de un cartílago estructurado, similar al cartílago hialino. El tratamiento con microfractura genera fibrocartílago que expresa colágeno tipo I y no muestra semejanza estructural al cartílago hialino o al pellet diferenciado in vitro.
Conclusiones: Las CTM se diferencian al linaje condrogénico y elaboran una matriz hialina con características estructurales similares al cartílago hialino normal.
Proyecto INNOVA BIOBIO 05B1357.

(192) GENERACIÓN DE UN MODELO MURINO INDUCIBLE PARA *Rai1* (Generation an inducible mouse model for Rai1)
Jessica Molina[a,b], Paulina Carmona[a,b], Juan Young[a], Katherina Walz[a]. (a) Centro de Est. Científicos; (b) U. Austral de Chile.

Objetivos: *Rai1* (Retinoic Acid Inducible 1) es un gen sensible a dosaje génico responsable de la mayoría de los fenotipos del síndrome Smith –Magenis (SMS). Anteriormente hemos generado un modelo murino para SMS (*Df (11)17/+*), el cual presenta la mayoría de los fenotipos clínicos observados en pacientes. En este trabajo propusimos generar un modelo murino condicional para la sobreexpresión de Rai1 en diferentes áreas del cerebro, para estudiar la reversibilidad de los fenotipos presentes en *Df (11)17/+*.
Metodología: Fueron generados los ratones transgénicos utilizando el constructo (EGFP –pBI-*Rai1*HA), el cual codifica para *Rai1* marcado con un epítope HA bajo un promotor que posee un elemento regulatorio que responde a tetraciclina, y EGFP en forma independiente. Los ratones positivos (PCR y Southern Blot), fueron cruzados con animales transgénicos para tTA para inducir expresión de *Rai1*- HA y EGFP en diferentes regiones del cerebro.
Resultados: Generamos seis líneas trangénicas con diferente número de copias insertadas del constructo. Cinco expresaron el transgen por inducción de la proteína tTA en ausencia de tetraciclina. Se observaron distintos niveles de expresión de EGFP en las distintas líneas y en las áreas cerebrales esperadas.
Conclusiones: Logramos generar exitosamente un modelo murino inducible para la sobreexpresión de *Rai1* bajo promotores específicos cerebrales. Herramienta fundamental que nos permitirá analizar la sobreexpresión de Rai1 tejido- específico en diferentes momentos del desarrollo encendiendo y apagando la expresión con tetraciclina. Actualmente apuntamos nuestro trabajo al rescate de los fenotipos presentes en los ratones *Df. (11)17/+*.

(193) ESTUDIO DEL FENOTIPO REPRODUCTIVO DE RATONES MACHO DEFICIENTES EN NPC2 (Studies on the reproductive phenotype of NPC2-deficient male mice)
Oñate-Alvarado, M.J.[1], Busso, D.[1], Morales, M.G.[2], Moreno, R.D.[1], Zanlungo, S.[2]. [1]Facultad de Ciencias Biológicas y [2]Facultad de Medicina, P. U. Católica de Chile, Santiago. dbusso@bio.puc.cl

Objetivos. La proteína transportadora de colesterol NPC2 se expresa en testículo y es uno de los principales componentes del epidídimo. NPC2 podría estar involucrada en la adquisición de colesterol por la membrana espermática durante la maduración epididimaria. Previo a la fecundación, la remoción de colesterol de dicha membrana permite la "reacción acrosomal" (RA) o exocitosis de una vesícula conteniendo proteasas de la cabeza del espermatozoide. En este trabajo evaluamos si ratones macho deficientes en NPC2 presentaban alteraciones en sus órganos reproductivos y/o en la fisiología espermática.
Metodología. Se compararon ratones adultos BALB/c *wild-type* (WT) con hipomórficos para npc2 (que expresan 0-4% de NPC2) (NPC2-/-). Los testículos y epidídimos fueron fijados en Bouin y teñidos con Pas/Hematoxilina para el análisis histológico. Los espermatozoides fueron obtenidos del cauda epididimario, contabilizándose motilidad y porcentajes de anomalías morfológicas. La RA fue evaluada por tinción con Coomasie Blue.
Resultados. Los animales NPC2-/- presentaron testículos y epidídimos de histologías normales, y espermatozoides con porcentajes de motilidad y anomalías morfológicas similares a los WT. Las cinéticas de RA de los espermatozoides NPC2-/- y WT fueron similares, sugiriendo que NPC2 no es relevante para el transporte de colesterol en la necesario para la RA, o que una expresión residual de NPC2 en los hipomorfos es suficiente para dicho proceso.
Conclusiones. Nuestros resultados sugieren que NPC2 podría ser importante pero no fundamental para la organización histológica del epidídimo y el testículo, o para la motilidad y RA de los espermatozoides.
FONDECYT 1070622 a S.Z. y FONDECYT 1070360 a R.D.M.

(194) CONSTRUCCIÓN DE UN SENSOR DE pH EXTRACELULAR (pH_o) CODIFICADO GENÉTICAMENTE (Construction of a genetically encoded extracellular pH sensor)
Moisés Sandoval[1,2], Javier Urra[1], Francisco V. Sepúlveda[1] y Pablo Cid[1]. Centro de Estudios Científicos CECS [1]. Universidad Austral de Chile [2]. pcid@cecs.cl

Objetivos. Se ha especulado que existen microdominios de pH_o que se forman en los espacios de las barreras hemato-tisulares y los espacios basolaterales en epitelios transportadores. El pH de estos microdominios extracelulares influye en diversas funciones celulares a través de cambios en la actividad de las proteínas de membrana. En este trabajo nos propusimos desarrollar un sensor que permita la monitorización dinámica del pH_o en estos espacios de difícil acceso.
Metodología. El sensor es una proteína quimérica que contiene ECFP y EYFP en tándem hacia el extracelular, un dominio transmembranal del receptor de PDGF y la región C-terminal de la *AQP-4* hacia el intracelular. Esta construcción se transfectó en forma estable en células MDCK. El efecto del pH sobre la fluorescencia se estudió mediante microespectrofluorimetría.
Resultados. La construcción se expresó en la membrana basolateral. Cuando se excita a 430nm se produce FRET en que la razón de fluorescencias EYFP/ECFP (525/480nm) fue dependiente del pH_o con un $pK_{0.5}$=6.8. En la línea MDCK estable se detectó una acidificación en las regiones intercelulares dependiente del Na^+ extracelular y sensible a la amilorida, la que es consecuencia de la extrusión de protones por un intercambiador NHE luego de una carga ácida intracelular.
Conclusiones. Hemos desarrollado un sensor proteico del pH_o de microdominios basolaterales en células epiteliales en un rango fisiológico. La expresión *in vivo* de este sensor codificado genéticamente puede ser gran utilidad para el estudio del pH_o en las barreras hemato-tisulares *in situ*.

Indice de autores

XXI Reunión Anual
Sociedad De
Biología Celular De Chile

A

Abbott A. 63
Abdelkarim M. 78
Acevedo Gutiérrez C. 15
Achurra P. 25
Acuña R. 33
Acuña-Castillo C. 61
Adasme T. 39
Aguayo C. 77
Aguayo L. 62, 62
Aguayo L.G. 62,52, 14, 75, 33
Aguilar L. 41, 60, 73, 80
Aguilar M 19
Aguilera R. 18
Aguilera S. 33
Aguillón. J.C. 61, 43
Ahonen C. L. 59
Alarcón G 72
Alarcón L. 82
Albornoz V. 47
Alcaino H. 21
Aldunate R. 26
Alfaro I. 81
Aliaga E 62, 63
Allende E. 16, 23
Allende M. L. 42, 65, 83
Allende M. 65, 85
Allers C. 71
Alliende C. 33
Almeida V. 81
Altamirano F. 17, 36, 37
Alvarez A. 18, 52, 62
Alvarez A. R. 82
Alvarez M. 38, 48, 67
Alvarez R. 13, 64
Alvarez-Saavedra M. 29
Amigo L. 76
Ampuero E. 33
Ananthanarayanan M. 20
Andrés Berndt F. 44
Anguita T. 71
Angulo C. 41, 78
Annaert W. 23
Antonelli M. 17
Añazco C. C. 29, 76
Arancibia R. 79
Arancibia S. 61
Aranda-Jaque E. 40
Araya F. 47, 84
Araya J. 48, 54
Araya J. E. 72
Araya R. 19
Arismendi M. N. 41
Armijo E. 82
Arrázola M.S. 43
Arredondo C. 24, 38, 53
Arrese M. 20, 72
Arriagada G. 22
Astrosa A. 19
Astroza A. 51
Astudillo J. 47, 84
Astudillo P. 54, 71, 72
Avila A. 62
Avila J. 44
Avila M. 33
Avilés E. 21
Aylwin C. 33
Aylwin M. L. 28

B

Babul M. 25
Bahamonde P. 44
Barrera S. H. 73
Barriga E. H. 46
Barros L. F. 23, 45, 48, 77
Baum B. 33
Becker C. M. I. 48
Becker T. 47
Belmar S. W. 81
Beltrán C. 60, 61
Beltrán F. 58
Benos Dale J. 57
Bertín A 44, 84
Bertinat R. 41, 57, 57, 66
Best C 66
Bisbal M. 63
Bittner C. X. 77
Böhmwald K 61
Bohórquez D. 82
Bolatto C. 46
Bono M. R. 2029, 60
Bouchaert E.M. 78
Boza Y. 76
Brandan E. 23, 77
Bravo ML. 71
Bravo S. 17
Bravo-Zehnder M. 25
Brito M. 33
Brito-Moreira J. 81
Bronfman F. C. 16, 23, 82, 83
Bronfman M. 16, 20, 34, 45, 54, 56
Brouner-Visser J. 51
Bruna C. 36
Bucarey J. L. 71
Bull P. 34
Burcelin R. 78
Bush A. bI. 33
Busso D. 86
Bustos F. 62

C

Cabrera P. 83
Cáceres A. 63
Cáceres M. 60, 79
Calcaterra. N. 47
Calderón J. 25
Calixto J. 7
Cambiazo V. 4546, 64, 84, 85
Campos E. O. 45
Canales C. 66
Cancino J. 13
Cancino L. 85
Candia : A. 61
Candia E. 60, 61
Cánovas J. 46
Cantuarias B. L. 48
Caprile T. 28
Cárcamo J.G. 35, 42
Cariou B. 78
Carmona P. 86
Caron S. 78
Carpio D. 15, 52
Carrasco H. 24
Carrasco L. 34
Carrasco M. A. 39
Carreño L. 80
Carreño L. J. 21
Carrión F. 42
Carvajal J.A. 58
Carvallo L. 64
Casanello P. 58
Cassels B. K. 41
Castro I. 33
Castro M. 16, 58, 78
Castro P. 52
Castro T. 40
Castroe M. 41
Cataldo R. 26
Caviares F. 63
Cea L. A. 79
Cerda G. 82
Chacón M. A. 81
Chambers B. 42
Chiba A. 3
Chiong M. 37, 55
Cid. P. 40, 59, 86
Cifuentes M. 59
Cisternas C. 48
Cisternas P. 58
Claude A. 42
Coddou C. 34
Colman D. R. 14
Colombres M. 43, 45, 81
Concha I. 16, 41, 58, 78
Concha M. L. 16, 25, 61, 83
Conget P. 15, 71, 52
Contreras A. 78
Contreras E. 24
Contreras F. 42, 79
Contreras-Vallejos E. 44
Copaja-Soto M. 34
Cordero E. M. 72
Cornejo A. 72
Cornejo I. 40
Cortés C. 22, 41, 62, 82
Cortez M. 72
Court F. 9
Couve A. 14, 44, 56, 64, 66
Covacevich Y. 83
Craige B 15
Criollo A. 37, 52
Cruzat F. 17, 19
Cuello M. 36, 37, 58, 73
Cuervo A. 76
Cuevas M. 14
Cuevas M.E. 62

D

da Silveira J. F. 72
De Calisto J. 60
De Ferrari G. 17, 33, 44
De La Fuente M. 44
Del Pozo M. 56
Delpiano A.M. 58
Deves R. 3
Díaz C. 46
Díaz D 72
Diaz-Araya G. 34, 57, 73
Díaz-Elizondo J. 39, 55
Dominguez C. 35
Donoso P. 39
Droppelmann C.A. 77
Dumont J. 78
Durán C. 42
Duran D. 77
Duran-Sandoval D. 78

E

Edwards M. A. M. 48
Ehrenfeld I. 19
Ehrenfeld P. 51, 74
Eisner V. 37
Ernstoff M. M. 59
Escobar S. 67
Escobedo N. 57
Escudero C. 58
Escudero C. A. 83

Espagnolle N. 21
Espejo P. 79
Espinosa M. 66
Estrada J. M. 67
Estrada M. 17, 36, 37
Eugenin E 62
Ewer J. 9
Ewert P. 33
Ezquer F. 15, 52
Ezquer M. 15, 52

F

Faundez V. 15
Faure-André G 29
Feijóo C. G. 83
Fernández J. 13, 25, 64
Fernández J. A. 61
Fernández M. 72
Ferrada C. 18
Ferreira A. 36, 41, 43, 60, 80
Ferreira V. 43, 80
Ferreira Vigouroux A. 18
Fierro A. 60
Figueroa A. D. 82
Figueroa C. D. 19, 51, 56, 74
Figueroa F. 42
Figueroa P 72
Figueroa V. 55
Figueroa-Amenábar C. 43
Flavio Salazar-Onfray. 80
Flores A. 72
Flores M. P. 48
Flores O. 55
Franco da Silveira J. F. 48
Frommer W. 77
Fruchart J-C. 78
Fuentealba J. 52, 62
Fuentealba P. D. 48
Fuentes E. 67
Fuentes L. R. 64
Fuentes P. 46
Fuentes R. 13
Fuenzalida K. 34
Fuse S. 59

G

Gaete M. 55
Galdames L. 52
Galindo M. 39, 55, 72
Gallardo V. 42
García M. A. 22, 41, 86
Gareth I. O. 73
Garner C. 67
Garrido W. 35
Gatica C. 19
Gatica R. 40
Gatica-Andrades M. 43
Gaur T. 72
Ginesta A. 18, 80
Glavic. Á. 25
Gleisner A. 20
Glimcher L. 20, 63
Godoy J. 45, 63
Goldsmith C. 33
Gomez-Skármeta J. L. 83
González A. 13, 25, 28, 35, 44, 53
González C. 44, 60
González C. B. 29, 76
González D. 33
González F. 18
González H. 61
González J. 72
González M. 25, 39, 45, 74
González M. J. 33
González R. 44, 79
González S 33
González. A. 63
González. J. 48, 54
González-Billault C. 63
González-Oyarzún M. 35
Gorham J. D. 59
Götherström C. 71
Grabowski C. 18
Grandy R. 35
Guajardo A. 64
Guermonprez P 29
Guojun Bu 75
Gutiérrez B. 54
Gutiérrez J. 23
Gutiérrez R. E. 29
Gutiérrez-Pajares J. L. 53
Guzmán E. 77
Guzmán G. 62
Guzmán L. 33

H

Haeger P. 26, 39
Haensgen H. 62
Hager Ribeiro C. 60
Hamuy M. 3
Hanna P. 46, 64, 84
Härtel S. 14, 66, 83
Heisenberg C.-P. 16
Henríquez B. 19
Henríquez C. S. 46
Henríquez J. P. 40

Henriquez M. 53
Henríquez. J. P. 21
Hepp M. 19
Hermosilla T. 28
Hermoso M. A. 60, 61
Hernandez P. 47
Hernández P. 65, 65
Herrada A. 42, 79
Herrera R. 51, 85
Herrera-Molina R. 28
Hetz C. 20, 37, 53, 63
Hidalgo C. 7, 21, 26, 37, 39, 71, 77
Hidalgo R. 60
Hinrich M.V. 84
Hödar C. 64, 84
Huenchuñir G. P. 35, 48
Huidobro-Toro J. P. 34
Humeres A. 26

I

Ibáñez F. 46
Ibar C. 25
Ibarra P. 35, 62
Imarai M. 43, 61
Inestrosa N. C. 7, 18, 26, 43, 45, 55, 63, 81, 81, 81
Insunza A. 71
Ivanova A. 14
Izaurieta P. 84

J

Jacobelli S. 25
Jaimovich E. 19, 37, 78
James S. 33
Jaque M. 73
Jaramillo P. 86
Jarpa E. 25
Javed A. 39
Jennifer Alfaro 20
Jiménez E. 63
Jiménez-Mateos E. M. 44
Jung J. E. 53

K

Kalergis A. 61
Kalergis A. M. 8, 21,42, 79, 80
Karmelic I. A. D. 81
Kato S. 37, 73
Kedl R. M. 59
Kerr B. 29
Kerry B. 38
Klein A. 52, 82, 83
Klip A. 78
Koch X. 36
Kohn R. 55
Köppen M. 16
Korsmeyer S. 20, 63
Krieg M. 16
Kroemer G. 52
Kuipers F. 78
Kukuljan M. 44, 46, 84
Kurte M. 42

L

Lagos C. F. 35, 48
Lagos M. 62
Lamperti L. 77
Lange S. 73
Larenas V. 48, 77
Larraín J. 24, 64
Larrondo M. 18
Lavandero S. ....17, 21, 31, 34, 37, 38, 39, ...52, 55, 57, 71, 73, 76, 78
Lazo OM 82
Le Blanc K. 71
Leal N. 39
Leal S. 67
Leighton F. 26
Leisewitz A.V. 56
Leiva A. 61, 76
Lemus C.G. 83
Lengner C. 72
Leniz I. 84
Lennon-Duménil A.M. 29
León G. 22, 78
León R. 46
Leonardo Vargas 20
Lepoittevin C. 85
Letelier J. 84
Leyton C. 33
Leyton L. 24, 28, 38, 38, 53, 73
Lezana J. P. 16
Lian J. 39, 55, 72
Lim C. M. 33
Lisbona F. 20, 53, 83
Lizama C. 17, 35
Lizama I. 22
Lizana R. 82
Lladser A. 24, 38, 41, 73
Llanos P. 77
Loaiza A. 23
Lobos L. 41
Lobos-González L. 73
Loosli F. 25
López J.P. 36
López M. 18, 42, 43, 80

López N.....36, 43, 80
Low M.....21
Luo S.....45

M

Maccioni R. B.....44
Maisey K.....43, 61
Majóo P.....65
Maldonado I.....36, 60
Maldonado R.....78, 84
Mancilla H.....41
Marcellini S.....36
Marengo J. J.....33
Maribel Donoso.....75
Marini N.....42
Márquez F.....28
Martínez A.....55
Martínez C.....54
Martínez F.....22, 41
Martínez G. R.....54
Martínez J.....60, 79
Martínez M.....24
Martinez R.....35, 60
Martínez. A. D.....33
Marzolo M. P.....20, 72, 75, 83
Massardo L.....25
Mateluna F.....57, 73
Maturana C.....59
Matus C. E.....19, 51, 74
Matus S.....20, 25, 53, 63
Matus V.....35, 80
Maureira M. A.....78
Mears D.....77
Medina J.....7
Meisel. L.....27
Mena C.....35
Mena N.....82
Mena W.....47
Menares-Castillo E.....43
Mendoza-Naranjo A.....82
Mesa R.....45
Mesa R. A.....55
Metz C.....28
Mezzano D.....35, 80
Mezzano V.....77
Michea L.....34, 39, 44
Micheay L.....42
Milla L. A.....65
Millán C.....22, 41
Minniti A.....26
Minniti A. N.....55
Miquel J. F.....72
Moldenhauer H.....45
Molina A.....48, 67
Molina A.....67
Molina J.....86
Molina L.....74
Molina M. C.....43, 60
Monasterio. O.....46
Montecino M.....17, 19, 22, 35, 36, 62
Montecinos H.....28, 40
Montenegro C.....63
Montero F.....57
Montero M.....44
Montoya A.....84
Montoya F.....86
Mora S.....82
Moraga F.....37
Moraga G.....33
Morales B.....21, 63
Morales C.....64
Morales D.....59, 66
Morales G.....52
Morales M.G.....86
Moreno A.....57, 66
Moreno D. R.....51
Moreno R. D.....17, 35, 74, 86
Mortara R.....48, 54
Müller M.....16
Muñoz C.....48, 54
Muñoz G.....62
Muñoz J. P.....21, 71
Muñoz L.....18
Muñoz M.....46
Muñoz R.....64

N

Navarro J.....76
Neira I.....72
Neira T.....61
Niemeyer M. I.....59
Noelle R. J.....8, 59
Nonet M. L.....45
Norambuena A.....28
Nova E.....77
Nualart F.....21, 22, 24, 35, 40, 41, 55, 58, 59, 86
Núñez F.....17, 44
Núñez M. T.....21, 26, 82

0

Ocaranza M. P.....41
Olate J.....19, 22, 35, 84
Olea-Azar C.....39
Olguín P.....25
Oliva B.....36
Oliva C.....47

Olivares F. 74
Olivares H. 72
Olivares W. 54
Olivari F. 65, 85
Olivero P. 39
Oñate-Alvarado M.J. 86
Opazo C. 14, 33, 44, 52, 62, 62, 62, 82
Orellana A. 22, 78
Orellana J. 36
Orellana. A. 66
Orrego P. 72
Ortiz R. 35, 74
Osorio F. 60
Osorio J. 36
Osorio L. 48, 54
Osses N. 54
Oteiza P. 16
Owen G. 36, 53, 73, 74
Owen G.I. 27, 37, 40, 71
Oyanedel N. 78
Oyarce C. 17, 37
Oyarzún C. 45

P

Pacheco A. 16
Pacheco R. 79, 80
Palacios-Prado N. 74
Palma V. 65, 82
Panes O. 35, 80
Panizzutti R.A. 81
Paola Krall 66
Pardo E. 63
Parodi J. 14, 62
Parra V. 37
Parraguez J. I. 83
Pastenes L. 71
Pastor P. 55
Paula-Lima A. C. 81
Pávez L. 45
Pavicic F. 51
Pavicic M. F. 19, 74
Paz M. 63
Paz Marzolo M. 76
Paz Reyes 20
Pedrozo Z. 39
Pereda C. 18, 42, 82
Pereira J. 35
Pereiro L. 83
Pereiro L.a 25
Perez de Arce K. 62
Pérez M. 48, 57
Pérez P. 33
Pérez R. D. 60
Pérez-Acle T. 35, 48
Pérez-Martín M. 59
Pérez-Munizaga D. 36, 58
Perez-Perez G. 38
Peters C. 33
Pino A. M. 71
Pino C. 62
Pinto MA. 71
Pizarro E. 67
Plomion C. 51, 85
Poblete E. 67
Poblete M. 56
Ponce M. 48
Pontigo J. P. 57, 66
Porras O. H. 45
Preibisch S. 16
Pulgar E. 41
Pulgar R. 74

Q

Quest A. 24, 38, 41, 53, 53
Quest A. F. 28, 38, 73, 73
Quezada C. 35, 42
Quezada M. 27
Quezada S. A. 8
Quintana J. 25
Quiñones V. 76
Quiroga C. 37

R

Rafaela Erices 71
Ramió L. 16
Ramírez A. 16, 41
Ramírez G. 36, 43, 80
Ramirez O. 66
Ramírez O. A. 14
Ramos B. 20, 72
Ramos P. C. 51
Räth C 66
Rauch M.C. 42
Rebolledo D.L. 55
Reinchisi G. 82
Retamal C. E. 75
Retamal M. 56
Reyes A. E. 36, 46, 85
Reyes F. 22, 78
Reyes J. G.. 57
Reyes M. 33, 48
Reyes Martínez J. 15
Reyes P. A. 60
Reyes. A. E. 58
Reyes-Cerpa S. 61
Ribeiro C. 36, 43, 80

Ricardo D. 57
Riedel C. 61, 62, 82
Riera P. 60
Rigau T. 16
Rigotti A. 76
Rios S. 54, 71
Riquelme C. 48
Riquelme E. 80
Riquelme E. M. 21
Riquelme M. 83
Riquelme M. A. 19, 79
Rivas C. 77
Rivera J. 37
Rivera M. 16
Rivera M. F. 48
Roa J.P. 52
Rodríguez A. 76
Rodriguez D. 24, 38
Rodríguez J. P. 72
Rodríguez M. 43, 60
Rodriguez S. 72
Rodríguez. J. P. 54, 71
Rodríguez-Gil JE. 16
Rodríguez-Tirado C. 43
Rojas D. A. 58
Rojas I.G. 76
Rojas R. 20
Rojas S. 44
Rojas-Rivera D. 55
Romo X. 75
Rosa Bono M. 79
Rosemblatt M. 20, 29, 60, 79
Roth A. D. 14
Rozas C. 63
Rudoplh M.I. 76
Ruiz P. 61
Ryan T. 45

S

Sadarangani A. 37, 73
Saerle A. 77
Sáez C. 36
Sáez CG 35, 80
Sáez J. C. 19, 56, 79, 83
Sáez M. 38
Sáez M. A. 29
Sáez P. J. 83
Sáez. J. C. 41, 74, 75
Sagua H. 48, 54, 72
Salas D. 55
Salas M. 40, 42
Salazar G. 15
Salazar K. 24, 59
Salazar L. 61
Salazar-Onfray F. 18, 42, 43
San Martín I. 39, 55
Sánchez G. 39
Sánchez H. A. 41, 75
Sánchez N. 24
Sandoval C. 77
Sandoval D. 21
Sandoval M. 33, 86
Sandoval P. 47, 85
Sandoval S. 44
Sanhueza D. 34
Santa María L. 44, 84
Sanz A. 60
Saona A. 29, 38
Sarmiento J. M. 29, 76
Sauma D.A. 79
Schalper K. 56, 74
Schwaeble W. 43, 60
Segal G. 80
Sepúlveda F. 52, 62, 62
Sepúlveda F. J. 14
Sepúlveda F. V. 40, 86
Sepúlveda M. 44
Serrano A.E. 43
Shoji K. F. 41, 56
Sierralta. J. 47, 65
Silva A. 28, 55, 59
Silva S. E. 48
Simon V. 20
Slebe J. C. 40, 35, 41, 42, 57, 57, 59, 66, 75, 78
Smith P. 71
Smith P. C. 54, 60, 79
Sobrevia L. 58, 77
Sotelo P. 75
Soto C. 53
Soza A 28, 63
Spichiger C. 57, 75
Staels B. 78
Stein G. 39, 55, 72
Stein J. 39, 55, 72
Suazo M. 74

T

Tapia J. 24, 38
Tapia S. 67
Tello J. A. 14
Testart E. 71
Tichauer J. 52
Tobar H. 61
Tobar J. 79
Toledo C. 56
Toledo H. 38
Toledo P. 42
Toro B. 76
Torpier G. 78

Torrealba C. 13
Torrejón M. 84
Torres E 80
Torres M. 16, 53
Torres V. 24
Torres V. 38, 53, 67, 73
Troncoso R. 38
Turk M. J. 59

U

Ulloa J. A. 85
Undurraga C. 46, 47, 85
Urbina D. C. 27
Urra J. 86
Urra S. 23
Urrutia C. R. 56
Usherwood E. J. 59
Utreras E. 44

V

Valck C. 36, 43, 60, 80
Valdés D. 43
Valdivia L. 65
Valdovinos D. 76
Valenzuela C. 51
Valenzuela J.I. 64
Valenzuela M. 38
Valenzuela R. 60, 61
Valitutti S. 21
van Wijnen A. 39, 55, 72
van Zundert. B. 62
Varela N. 72
Varela-Nallar L. 18, 43
Vargas B. F. 48
Vargas K. J. 56
Vargas P. 29
Vásquez D. 28
Vasquez L. 26
Vega D. 45
Vega N. 83
Velásquez Z. 57, 59, 66
Venegas D. 34
Vera J.C. 77
Vera M. I. 48, 67
Verselis V. K. 75
Vicencio J. M. 52
Vidal P. 75
Vidal R. 44, 64
Vidal R. L. 14
Villablanca E. 42, 65
Villalon M 66
Villanueva C.I. 76
Villegas K. 39, 55
Villena J 53
Vivar J. 57, 59, 66
Vivar-Sánchez R. 57, 73

W

Waldron J. 52
Walz. K. 66, 86
Wasiuk A. 59
Weiner A. 47
Westermeier F. 57, 59
Whitlock K. E. 9
Whitlock. K. 47, 84
Wittbrodt J. 25
Wyneken. U. 33, 44

Y

Yamamoto M. 71
Yáñez A. 15, 35, 40, 41, 52, 57, 59, 78, 78
Yáñez A. J. 42, 57, 75
Yañez M. J. 22
Yefi R. 76
Yoshida N. 72
Young Anze M. 15
Young J. 23, 38, 48,86
Young J. I. 29
Young R. 65

Z

Zaelzer C. 58
Zamorano. P. 67
Zanlungo S 52, 76, 82, 83, 86
Zepeda P. 75
Zheng J. 71
Zúñiga A. 46, 84, 85
Zúñiga R. 43
Zuñiga S. 20, 72