

# XXXVIII

## Congreso Chileno de Microbiología

22-25 de noviembre 2016



[www.somich.cl](http://www.somich.cl)

AUSPICIADORES 2016



FERMELO BIOTEC



# XXXVIII

# Congreso Chileno de Microbiología

22-25 de noviembre 2016  
Valdivia, Chile





# Directorio SOMICH

## COMITÉ ORGANIZADOR



**Presidente**  
Dr. Nicolas Giuliani

Departamento de Biología  
Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile.



**Vicepresidente**  
Dr. Claudio Martínez

Departamento de Ciencia y Tecnología  
de Alimentos Centro de Estudios en  
Ciencia y Tecnología de Alimentos  
Universidad de Santiago de Chile.



**Tesorera**  
Dra. Cecilia Toro

Instituto de Ciencias Biomédicas  
Facultad de Medicina  
Universidad de Chile.



**Secretaria**  
Dra. Claudia Saavedra

Escuela de Bioquímica Facultad  
de Ciencias Biológicas Universidad  
Andrés Bello.



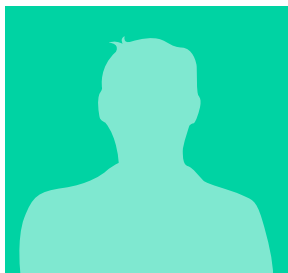
**Dr. Omar Orellana**  
(Presidente 2008-2012)

Programa de Biología Celular y  
Molecular Facultad de Medicina  
Universidad de Chile.



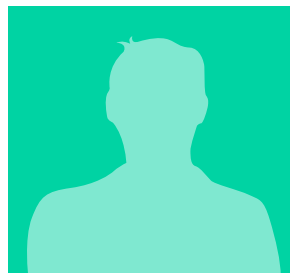
**Dr. Francisco P. Chávez**

Departamento de Biología  
Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile



**Dr. Luis Castillo**

Universidad de La Serena



**Dr. Patricio Godoy**

Universidad Austral de Chile



**Dr. Francisco Remonsellez**

Departamento de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería y Ciencias  
Geológicas  
Universidad Católica del Norte.

# CONFERENCIAS

## CONFERENCIA INAUGURAL

### **Vascular colonization by *Neisseria meningitidis*.**

**Dumenil G<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> Pathogenesis of vascular infections unit, INSERM, Institut Pasteur Paris, France.

A number of infectious agents, including emerging pathogens and agents responsible for nosocomial infections, reach the blood during infection. Colonization of the bloodstream induces different types of severe pathological consequences such as septicemia and meningitis. Despite the availability of antibiotics these infections resulting in sequels and high death rates remain a major concern in intensive care units and emergency rooms. A better understanding of the mechanisms of disease is a necessary step to the identification of innovative treatments. We study the pathogenesis of *Neisseria meningitidis*, a Gram-negative bacterium that recapitulates these different pathological effects. This bacterium assymptomatically colonizes the human nasopharynx and pathology is initiated when the bacterium crosses the nasopharynx epithelium and reaches the bloodstream where they survive and proliferate. To study the blood phase of the infection we take advantage of a multidisciplinary approach combining microbiology with clinical approaches, cell biology, vascular biology, chemistry and physics. *In vitro* models allow us to explore the biogenesis and function of type IV pili expressed by *Neisseria spp.* and how they mediate intricate cross-talk with endothelial cells in culture. We have developed an animal model based on the xenograft of human skin onto immunodeficient mice. Because of its strict human specificity *N. meningitidis* type IV pili bind only to capillaries present in the human tissue. Strikingly, adhesion along vessels triggers local inflammation, coagulation and loss of vascular integrity, the three typical histological observations in human cases of infection. Availability of such a model of infection recapitulating the cardinal features of the blood phase of the infection now allows us to address key questions in terms of the bacterial and host processes involved in *N. meningitidis* caused vascular damage. These results point out the importance of the interaction between bacteria and the endothelium in the context of *Neisseria meningitidis* sepsis.

## CONFERENCIAS PLENARIAS

### **Real-time microbial imaging and analysis.**

**Banks, P.R.** Scientific Director, BioTek Instruments, Inc.

Multi-mode imagers and automated imaging platforms are a modern tool for multi-disciplinary labs to enable multiple microbiological research needs in biofuels, infectology, advanced perfusion assays, yeast and others assays.

Depending on the context, microbes play either a deleterious or a helpful role. Bacteria and yeast can be the cause of disease, corrosion and decay, but they are also used for the production of foods, chemicals and biologicals. Likewise viruses cause a multitude of diseases, but can be also used for genetic manipulation of organisms in the laboratory. Study of these organisms requires both qualitative and quantitative information in regards to growth and phenotype, making the multimode imager an ideal tool for their investigation.

Yeast strains are constantly being developed and optimized for specific tasks. The ability to assess growth under different environmental stress is a key element in their development. While many answers can be derived from light scatter measurements, confirmatory phenotypic data is also necessary. We will provide data using both light scatter absorbance measurements and image analysis to quantitate yeast cell growth under different environmental stress, such as nutrient deprivation, temperature variation and increasing salt and ethanol concentrations. Drug induced phenotypic changes will also be demonstrated.

Antibiotic resistance determination of bacteria is a critical component in laboratory research as well as clinic diagnosis. The growth of bacteria under antibiotic selection will be demonstrated using light scatter as well as kinetic image video.

Viral quantitation uses plaque assays to assess lytic virus infection while titers for viral strains that do not result in cell lysis are usually determined with some form of focus forming assay. We will demonstrate the quantitation of cellular infection with HIV using modified strains that result in fluorescence with infection. In addition a brief discussion of focus forming and plaque assay quantitation will be presented.

## Deciphering and improving wine yeast fermentation traits.

**Blondin B<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> Supagro – Institut National de Recherche Agronomique, Francia.

*Saccharomyces cerevisiae* is the preferred yeast to perform wine alcoholic fermentations given its strong ability to ferment grapes sugars and produce equilibrated fermentation bouquet. Those yeasts have been also selected for their capacity to withstand the multiple stress yeasts face during wine-making, low pH, sulfites, high ethanol, nutrients limitations. Although a large set of yeasts is available on the market there is still a room for further improvement since these selected yeasts do not fulfil all winemakers' requirements. While most yeasts have been until now selected from natural isolates new knowledge on wine yeast genome coupled to novel genetic approaches provide the opportunity to address the genetic basis of fermentation traits and build industrial yeasts through a targeted exploitation of the natural yeast diversity or through artificially created variations.

The identification of the genetic bases underlying wine yeast fermentation traits is a major challenge to improve industrial yeasts through breeding. Industrial relevant phenotypes (fermentation rate, alcohol tolerance, metabolites formation, etc.) are quantitative traits, can be addressed through QTL approaches. Using these methods we have been able to map genes involved in the control of several enological traits including the fermentation rate, the production of metabolites and the formation of aroma compounds. They have provided the support to develop a breeding program and the delivery of wine yeast with a perfect control of sulphur compounds formation during alcoholic fermentation. On the other hand, non-targeted approaches such as experimental evolution under selective cultivation conditions have been used. Based on a better understanding of yeast cell physiology, constraints can be imposed to push genome evolution towards specific metabolic traits. Successful engineered strains producing high amount of esters, which contribute to fruity and floral aroma in wine, or producing more glycerol and less ethanol have been obtained.

**Life without FtsZ is not so easy for *Escherichia coli*.****Vicente M<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> Centro Nacional de Biotecnología-CSIC, España

Cabría pensar que como FtsZ es una GTPasa del divisoma necesaria para iniciar la constricción en el centro de la célula, su ausencia no afectaría más que a la división celular. Sería esperable que las células carentes de FtsZ creciesen en masa y elongasen de manera normal, y que cuando recuperasen niveles normales de la proteína todos los daños revirtiesen y fuesen viables. Esto no es así, y las células de VIP205, una estirpe en la que se controla al gen *ftsZ* por un promotor inducible por IPTG, pierden la viabilidad cuando los niveles de FtsZ bajan del 20%. La pérdida de viabilidad ocurre incluso si se siembran en medio con inductor suficiente para recuperar los niveles normales de la proteína. Como FtsZ es el primer componente del divisoma que se ensambla, y el resto de los componentes del mismo precisan de su guía para localizarse, su ausencia conduce en primer lugar a la imposibilidad del ensamblaje de los otros elementos que como ZipA y FtsK le siguen. Se producen por ello desequilibrios en la membrana citoplásmica que alteran la permeabilidad y también aparecen defectos en la segregación de los nucleoides. La viabilidad no merma de manera tan conspicua en un mutante PAT84 cuando se inactiva la proteína FtsZ84. Los resultados sugieren que FtsZ tienen un papel adicional al que se le asigna en la división y que protege a las células que no se dividen frente a situaciones de estrés suave. La protección puede incluso realizarla alguna FtsZ inactiva, pero no ocurre en su ausencia. Lo que describimos tiene interés en la búsqueda de antibióticos, ya que la falta de la proteína es más perjudicial que su inactivación, y en la Biología Sintética por la necesidad de preservar en células sintéticas algunas funciones no directamente implicadas en la división.

## **Función de la vía del c-di-GMP cíclico en el control de la virulencia y de la formación de biopelícula en *Legionella pneumophila***

**Vianney A<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> Université Lyon 1, Ecole Normale supérieure de Lyon, France

Cyclic-di-GMP (c-di-GMP) is a bacterial second messenger involved in regulation of various cellular functions, including biofilm formation, and virulence. c-di-GMP is synthesized and degraded by diguanylate cyclases (DGCs, with GGDEF domains) and phosphodiesterases (PDEs, with EAL domains), respectively. *Legionella pneumophila* is a waterborne bacterium which replicates within protozoan cells and can accidentally infect human alveolar macrophages causing an acute pneumonia called Legionnaire's disease or legionellosis.

While investigating the function of the 22 potential c-di-GMP-metabolizing enzymes of the *L. pneumophila* Lens strain, we identified 3 enzymes that directly contribute to its ability to infect both protozoan and human cells, and 5 that are involved in the control of biofilm formation.

The first 3 enzymes display diguanylate cyclase (Lpl0780), phosphodiesterase (Lpl1118), and bifunctional diguanylate cyclase/phosphodiesterase (Lpl0922) activities. Mutants with deletions of the corresponding genes are efficiently taken up by phagocytic cells but are partially defective for the escape of the Legionella-containing vacuole (LCV) from the host degradative endocytic pathway and result in lower survival. In addition, Lpl1118 is required for efficient endoplasmic reticulum recruitment to the LCV.

The 5 other GGDEF/EAL proteins studied, Lpl0075, Lpl0329, Lpl1054, Lpl1176 and Lpl1559, participate in the formation and architecture of biofilms. Surprisingly, only two mutants exhibited a change in global c-di-GMP concentration. Moreover there is no correlation between diguanylate cyclase activities and biofilm promoting effect, highlighting that specific c-di-GMP pathways control *L. pneumophila* biofilm formation, most likely via temporary and/or local modulation of c-di-GMP concentration. Furthermore, Lpl1054 DGC is required for the formation of a dense biofilm in response to nitric oxide, a signal for biofilm dispersion in many other species. These results help to better understand the complexity and the specificity of c-di-GMP signaling pathways in *L. pneumophila* and should allow the exploration of more effective ways to fight against this pathogen. Funding: ANSES 2011-1-138





# **SIMPOSIOS**

# SIMPOSIO 1

## PATÓGENOS FÚNGICOS, TAXONOMÍA, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Coordinador: Dr. Patricio Godoy

### Importancia clínica de los test de susceptibilidad y nuevos puntos de corte

**Fernandez F<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Tecnología Médica, ciencias de la salud, Universidad San Sebastián.

En las últimas décadas, la comunidad médica se ha visto enfrentada a un gran incremento de población con patologías crónicas no transmisibles, como la diabetes, cáncer, enfermedades autoinmunes, con lo cual están más predispuestos a enfermedades fúngicas invasivas de difícil tratamiento y que requieren en su gran mayoría una terapia oportuna y dirigida. Determinar oportunamente la susceptibilidad antifúngica y asociar los valores de concentración inhibitoria mínima (CIM), con los puntos de corte clínico (PCC) y puntos de corte epidemiológico (PCE) con una especie específica es una herramienta de vital importancia que permite al clínico orientar de manera efectiva la terapia en pos del paciente. Luego del establecimiento de los PCC y PCE para las especies de los agentes fúngicos más frecuentes, *Candida* y *Aspergillus*, ha sido imprescindible identificar a nivel de especie cada aislado clínico. Debido a que estamos enfrentados a una creciente población inmunocomprometida expuesta a un sinfín de agentes fúngicos emergentes, gran parte de ellos desconocidos para la comunidad médica, destacamos la relevancia de realizar aislamiento, test de susceptibilidad ya sea por CLSI o EUCAST, y poder establecer a nivel nacional nuestros puntos de cortes con el fin de ofrecer a nuestros pacientes el tratamiento más oportuno, pertinente y seguro.

## **Nuevas especies y nuevos registros de hongos dematiáceos de Chile y España, con énfasis en miembros de *Chaetothyriales* y *Pleosporales***

**Madrid H<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias , Universidad Mayor.

Entre los años 2014-2016 hemos estado trabajando en el aislamiento y caracterización morfológica y molecular de hongos dematiáceos aislados desde muestras de suelo, plantas y humanos en Chile y España, con especial interés en miembros de Pleosporales (especialmente *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera* y *Exserohilum*) y Chaetothyriales (tales como *Exophiala*, *Cyphellophora*, *Cladophialophora* y *Rhinocladiella*). En esta presentación se entrega un reporte preliminar de nuevas especies y nuevos registros de hongos pertenecientes a dichos órdenes y otros, considerados de interés por estar relacionados con especies de importancia clínica o fitopatológica, o por existir escaso conocimiento sobre su distribución geográfica, taxonomía y relaciones evolutivas.

## **Nuevos hallazgos en micología médica en Chile y estimación de la enfermedad fúngica invasora** (New findings in medical mycology from Chile and estimation of serious fungal diseases)

**Álvarez E<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Programa Microbiología y Micología, F. de Medicina, Universidad de Chile.

Las infecciones por hongos se han convertido en un tema de gran preocupación en todo el mundo, se estima que más de 40 millones de personas sufren infecciones por hongos. En general, se ha observado el aumento del espectro de agentes aislados desde muestras clínicas dado el incremento de población susceptible, de las mejoras en el diagnóstico micológico, etc. En nuestro país uno de los principales problemas existentes es la escasa información de la casuística clínica de las micosis, así como también de la ausencia de un programa de notificación/monitoreo de éstas infecciones. En el presente estudio, presentamos nuevos hallazgos fúngicos de Chile, así como también las primeras estimaciones de enfermedad fúngica invasora total presente en nuestro país.



## Identificación polifásica de hongos incluyendo las técnicas de MALDI-TOF y ESI MS/MS

**Santos C<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, BIOREN-UFRO Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera.

Fungal polyphasic identification aims the integration of different taxonomic characters. By using numerous techniques, it is assumed the level of variation in the technique can be reduced, although variation in the fungal specimen remains. In the ground-breaking paper by Cain et al. (1994), a new methodology for the identification of bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-Of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) was presented, where sample preparation involved minimal purification of cells. Holland et al. (1996) described for the first time an improved method for the rapid identification of whole bacterial cells by MALDI-TOF MS, establishing the basis of the current methodology. This inspired the use of MALDI-TOF MS in fungal identifications (Santos et al. 2010). MALDI-TOF MS has now been applied routinely to analyse the chemical cellular composition of microorganisms, providing rapid and discriminatory proteomic profiles for identification and subtyping. The application of this technique for the identification of clinical fungal samples is currently well-established based on the remarkable reproducibility for the measurement of constantly expressed and highly abundant proteins, such as ribosomal proteins, that are used as biomarkers to generate a fingerprint profile that range between 2 and 20 kDa. However, the fungal identification by MALDI-TOF MS can be limited in some fungal taxonomic group, especially when genetically closely related species are under evaluation. In order to overcome this limitation, new methodologies based on liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS system) have been evaluated. In this conference, a detailed comparison MALDI-TOF MS vs. LC-MS/MS for fungal identification will be presented and discussed.

# SIMPOSIO 2

## VIRUS EMERGENTES

Coordinador: Dr. Rafael Medina

### Novel insight into Andes Hantavirus-host relationship; from basic to translational science

**Lopez-Lastra M<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Departamento de Infectología e Inmunología Pediátrica, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Departamento de Infectología e Inmunología Pediátrica, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Laboratorio de Virología Molecular, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. Andes virus (ANDV), a rodent-borne hantavirus member of the *Bunyaviridae* family of viruses endemic in Argentina and Chile, is the major etiological agent of hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS) in South America. ANDV is the only known *Hantavirus* to be transmissible from human to human. In this presentation novel aspects of ANDV replication will be discussed. Special focus will be given to the analysis of the ANDV small messenger RNA (SmRNA), which in contrast to most cellular mRNA lacks a poly(A) tail. Additionally, the SmRNA encodes two proteins the nucleocapsid (N) protein and also a non-structural protein (NSs) using a non-canonical cap-dependent translation initiation mechanism. These and other features will be analyzed. Finally, the relationships between ANDV induced disease and the infected hosts' genotype will be discussed.

Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica de Chile (CONICYT) through Programa Investigación Asociativa (PIA) ACT1408 and P09/016-F of Iniciativa Científica Milenio del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo

## Diagnosics and human immune system modeling for the 2014-2016 west african Ebola virus outbreak

**Prescott J**<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratory of Virology National Institute of Health Rocky Mountain Laboratories.

The recent outbreak of Ebola virus in West Africa is unprecedented with over 28,000 cases of Ebola virus disease (EVD). As part of the outbreak response, we established a joint NIH/CDC mobile diagnostic laboratory in Monrovia, Liberia. This laboratory supported the largest Ebola treatment unit (ETU) ever constructed by Médecins Sans Frontières (MSF), where we tested approximately 6000 patient samples over the course of 9 months. This outbreak has highlighted a need for an understanding of the interactions between these highly pathogenic viruses and the immune system, with an emphasis on modulating the immune response to temper disease. Humanized mice provide a unique tool for examining the interaction between filoviruses and the myeloid cells that they initially target. Since early events in the replication cycle of filoviruses rely on dendritic cells and monocytes, humanized mice allow for a detailed examination of how non-adapted viruses interact with the human immune response. My research examines how the natural reservoirs respond immunologically to the viruses they harbor in a way that circumvents disease, and contrast this with how humans and disease models respond to infection with the goal of modifying the immune response to augment the disease process.

## Is the broadly neutralizing activity of ANDV virus-immune sera the key for future treatment?

**Barria M<sup>1</sup>**, Garrido J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS) is a severe respiratory disease characterized by respiratory failure and cardiopulmonary shock, caused by Andes virus (ANDV) in South America. HCPS is fatal in around 36% of the people infected with the virus and anyone who comes in contact with rodents that carry Hantavirus is at risk of HCPS. Their mode of transmission is mouse-human but cases of person-to-person transmission have been reported in Chile and Argentina. To date, there is no specific treatment or vaccine for Hantavirus infection; development of an effective therapeutic agent is a high priority. This is mainly important in Chile. HCPS is a major public health problem due to the high costs related to morbidity and mortality associated with the infection. Our research is based in studying the humoral immune response of survival HCPS patients regarding its neutralizing capacity and IgG profile and activity, we believe this information will give us insight not only in the mechanism of immunity to fight the infection but also in development of better protocols to treat patients base in a monoclonal antibody (MAb) therapeutic product. MAb therapy is particularly well suited to this virus for a number of reasons. First, data indicate that in HCPS, high titers of neutralizing Ab correlate with milder disease and faster recovery. Indeed, convalescent plasma has already been used for passive immunotherapy of patients with acute HCPS significantly reducing the fatality rate. Second, the infection has a long incubation period with mild symptoms making diagnosis possible before the onset of HCPS and providing an interval for post exposure therapy. In our lab we have been able to rank convalescent patients according its capacity to neutralize the virus and characterized the IgG neutralizing response.

FONDEF ID14I10084; FONDECYT 11140561; Ichor Biologics LLC, USA.



## Immune evasion by Dengue virus: feeling the sting

**Fernandez-Sesma A<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Microbiology Icahn School of Medicine at Mount Sinai.

Dengue virus (DENV) is the most prevalent arbovirus that causes disease in humans. DENV has evolved to efficiently modulate innate immune responses in infected cells, such as dendritic cells (DCs), to allow for the establishment of infection in the host. Our studies focus on the ability of DENV to initiate and modulate innate immune pathways in susceptible human primary cells and systems. The finding that the DENV protease cleaves STING, an adaptor molecule mostly known for its role in DNA sensing led us to further investigate the mechanisms by which DENV infection can trigger DNA sensing pathways. Recent data from our group shows that different elements generated during DENV infection, such as mitochondrial DNA can trigger innate immune pathways, such as the cGAS/STING pathways in infected cells. Moreover, we found that different components of the NS2B3 DENV protease can induce the cleavage of STING as well as the degradation of cGAS, resulting in inhibition of type I IFN responses in infected cells. These data highlights the importance of identifying virus host interactions as potential targets for therapeutic interventions for DENV and other related flaviviruses.

NIH/NIAID: 1R01AI07345, R21AI116022, 1U19AI118610; DoD/DARPA: HR0011-11-C-0094

## SIMPOSIO 3

### VIRAL CELL INVASION: A MOLECULAR PERSPECTIVE ON HOW VIRUSES ENTER TARGET CELLS

Coordinadora: Dra. Nicole Tischler

#### Early arbovirus-host cell interactions: from transmission to cell entry and pathogenesis

Mazelier M<sup>1</sup>, Hoffmann A<sup>1</sup>, Léger P<sup>1</sup>, **Lozach P**<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Department of Infectious Diseases University Hospital Heidelberg.<sup>2</sup>.

During natural transmission, arboviruses are introduced into vertebrate host skin through arthropod bites, and the life cycle of viruses switch from the cell biology of arthropod vectors to that of vertebrate hosts. Indeed, the cell biology in vertebrate hosts is different from that in arthropod vectors, the consequence being that arbovirus particles can change some components and the composition of their lipid and glycan coats during host switch. However it remains unclear whether host alternation is important at the molecular level for the early steps of infection and virus entry into the first-target host cells as well as the subsequent steps leading to the pathogenesis. Within this workshop, this issue will be addressed based on the analysis of the phleboviruses Rift Valley fever and Uukuniemi in arthropod vector and mammalian host cells by state-of-the-art microscopy techniques in fixed and living cells.

## Mechanistic insight into hantavirus-induced membrane fusion from structure-guided functional analysis.

Bignon E<sup>2</sup>, Guardado-Calvo P<sup>1</sup>, Rey F<sup>1</sup>, **Tischler N<sup>2</sup>**, <sup>1</sup>Unité de Virologie Structurale, Département de Virologie, Institut Pasteur.<sup>2</sup>Laboratorio de Virología Molecular Fundación Ciencia & Vida.

Rodent-transmitted hantaviruses (*Bunyaviridae* family) are human pathogens that can produce fatality rates up to 50%. While their internal structural proteins are conserved with other segmented negative-strand RNA viruses, their envelope glycoproteins, Gn and Gc, are different. These glycoproteins are derived from a precursor polyprotein and upon assembly onto viral particles, they form spikes with apparent 4-fold symmetry. These surface glycoproteins mediate viral cell entry by receptor binding and membrane fusion. While Gn remains largely uncharacterized and displays a new fold, Gc is known to mediate membrane fusion after viral uptake into endosomes. Here we present functional data based on recent structural information on Gc from the *Hantavirus* genus that confirms that it is a class II viral fusion protein, such as those of *Phlebovirus* (a different genus in the *Bunyaviridae* family), *Flavivirus* and *Alphavirus* counterparts (the latter belonging to different genera of positive-sense, single-stranded RNA viruses). The hantavirus Gc protein presents several novel structural features among class II fusion proteins. In particular, we show that instead of having a single "fusion loop", hantavirus Gc inserts residues from three different loops into the target membrane to drive fusion, as confirmed functionally by structure-guided mutagenesis on the hantavirus pulmonary syndrome-inducing Andes virus. We further demonstrate that the low-pH dependent structuring of the membrane interacting region of Gc depends on a set of polar and electrostatic interactions. Furthermore, the novel N-terminal "tail" is crucial in stabilizing the post-fusion trimer, accompanying the swapping of domain III in the quaternary arrangement of the trimer as compared to the standard class II fusion proteins. The mechanistic understandings derived from these data are likely to provide a unique handle for devising treatments against these human pathogenic viruses.

Fondecyt 1140050 & Basal PFB-16.

## Structural biology of flaviviruses' capsid proteins: studies on binding to lipids and nucleic acids

**Thompson A<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica Médica Universidade Federal do Rio de Janeiro .

Flaviviruses comprise several human pathogens, including dengue, Zika, West Nile, Japanese encephalitis, yellow fever and hepatitis C viruses. Flaviviruses' particles are composed of a lipoproteic envelope surrounding a nucleocapsid, in which genomic RNA is complexed with multiple copies of the capsid protein. Recently we characterized the capsid proteins of all flaviviruses as supercharged proteins, proteins with high net charge/molecular weight that have the ability to deliver macromolecules into cells. We showed that the recombinant dengue virus capsid protein (DENVC) was able to translocate the plasma membrane of different types of cells, transporting either short oligonucleotide sequences or large nucleic acids, including the viral RNA, which were expressed efficiently. This DENVC ability supports the hypothesis that it may cooperate with the envelope protein during the membrane fusion step of virus entry, and also raise the possibility that DENVC would promote cell-to-cell direct transmission of viral RNA, allowing virus dissemination in the infected tissues without the need of virus release from the infected cell. Interestingly, when we compared DENVC-mediated transfection of viral RNA using proteins from serotypes 1 and 2 (DENVC1 and DENVC2), we found that DENV1 RNA transfection by DENVC2 was more efficient than transfection by the serotype specific DENVC1. To explain this difference, we investigated the structural biology of DENVC1 and DENVC2 using biophysical techniques. Comparison of their thermal stability in the presence or not of nucleic acids and liposomes; their radius of gyration and molecular envelope, obtained by small angle X-ray spectroscopy; and their structure, dynamics and binding to oligonucleotide and liposomes through nuclear resonance magnetic experiments, showed that, despite the high similarity between DENVC1 and DENVC2 primary sequence (69% identity), DENVC1 presents a lower stability and a higher radius of gyration, suggesting a more looser and dynamic folding, which would impact in RNA recognition by this protein.

Funding: CNPq - grant number 306669/2013-7, FAPERJ - grant number E-26/201.167/2014.



## Retroviruses and dyneins: hitchhiking to the nucleus

Arriagada G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Biologicas Universidad Andres bello.

In early stages of infection, after cell entry, murine leukemia virus (MLV), a simple retrovirus, needs to reach the nucleus in order to integrate into the host genome, nevertheless the cytoplasm is a extremely crowded medium, therefore MLV needs an active mechanism to transport its genome trough the cytoplasm. It has been described that actin and microtubule network are important for MLV infection, but the proteins involved in MLV retrograde transport from cell periphery to the nucleus are unknown. It seems likely that the MLV preintegration complex (PIC) interacts with cellular proteins to perform those tasks. We have demonstrated that microtubule motor cytoplasmic dynein complex and its regulator proteins interact with MLV preintegration complex at early times of infection, suggesting a direct interaction between the incoming viral particles and the dynein complex and have shown an essential role for the dynein regulators dynactin and NudEL on MLV infection. Following our research, we have performed and shRNA screening of the dynein chains on MLV infection. We found that silencing of a specific light chain, of the cytoplasmic dynein complex profoundly reduced the efficiency of infection by MLV reporter viruses, without altering traffic of cellular components. The block of restriction was determined to be in a step after reverse transcription, but before nuclear entry. Furthermore, the over expression of this light chain increases the infection of MLV in a dose dependent manner. We propose that the light chains of the cytoplasmic dynein complex are an important piece of the host machinery needed for MLV infection.

FONDECYT 1130852; Nucleo Milenio NC130011, NuMIND.

## SIMPOSIO 4

### IMPACTO DE LA SECUENCIACIÓN MASIVA PARALELA EN EL ESTUDIO DE MICROORGANISMOS

Coordinadora: Dra. Annette Tromber

#### **Tecnologías de Secuenciación Masiva Paralela: Avances en la Genómica Microbiana (Next Generation Sequencing Technologies: Advances in Microbial Genomics)**

**Sánchez C<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> Universidad Mayor.

Las nuevas tecnologías de secuenciación masiva paralela de DNA (NGS) han revolucionado el estudio de la genómica. Este método de alta resolución permite obtener una gran cantidad de información de manera eficiente, sensible, precisa y a bajos costos en un solo paso.

El poder de este tipo de secuenciación está causando un progreso sin precedentes en el campo de la microbiología, permitiendo: entender la composición genética de los organismos que antes eran imposibles de estudiar, ayudar a examinar las funciones biológicas microbianas y realizar un seguimiento de sus cambios genéticos, descubrir nuevos microorganismos, monitorear las interacciones patógeno-hospedero, controlar los patógenos en los alimentos, entre otros.

Recientemente, ha comenzado a surgir un gran interés en aplicar este tipo de metodologías en el área de la microbiología clínica, porque permite la identificación de patógenos de una muestra clínica compleja, polimicrobiana, de manera independiente del cultivo. Estos patógenos no podrían ser detectados por técnicas tradicionales basadas en cultivo y microbiología molecular. En este contexto, NGS está comenzando a tener un impacto en el área de la epidemiología molecular para el control de la infección y la detección de brotes de agentes patógenos en diversas comunidades.

Por otro lado, NGS ha sido una herramienta fundamental en el estudio de la metagenómica ambiental, permitiendo la caracterización genética del perfil de las comunidades presentes en una muestra compleja. Este tipo de estudio ha ayudado a descubrir la diversidad y la variabilidad biogeográfica, así como nuevos organismos; y explora la dinámica natural, evolución y adaptación de las poblaciones microbianas bajo diversas condiciones. La secuenciación masiva paralela está abriendo nuevas puertas en la genómica microbiana, revelando una nueva perspectiva sobre cómo los microorganismos impactan en los seres humanos y el medio ambiente.

## Small Genomes, Large Datasets: Genomic Approaches to Study Microbial Diversity

**Ugalde JA**<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad del Desarrollo. <sup>2</sup>Programa de Genómica Microbiana, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad del Desarrollo.

The rapid development of sequencing technologies over the last decade, has led to a significant decrease in the cost of genome sequencing. This has allowed the democratization of microbial genome sequencing, allowing research groups access to this type of information for their organisms of interest, explore strain collections, environmental isolates, among other multiple applications. The current challenge lies on the analysis of the information obtained, on how to generate and answer the appropriate questions with the information that is obtained. We can use these massive datasets to understand genomic adaptations of microbial strains to their particular environment, the diversity of microbial pathogens, and even the transfer of information between different microbial species.

In this talk, I will use examples from our work to explore some of the application of microbial genome sequencing, including different technologies, to understand the evolution and adaptation of microorganisms. This includes the study of single isolates, comparative genomic approaches for the discovery of natural products, phylogenetic studies of human pathogens, up to the use of metagenomic approaches to study microbial communities in urban environments.

Fondecyt Iniciación 11140666

Plan de Mejoramiento Institucional PMI Universidad del Desarrollo 1204

## Influenza A virus: Genomic diversity, microbiome structure and host responses associated with human severe disease

Medina R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Influenza virus (IV) infection can produce a significant respiratory disease, affecting yearly an important number of individuals worldwide. Of those affected by the virus, approximately 2-10% of individuals develop a severe respiratory illness that in some cases can result in death. Numerous factors can affect disease severity due to IV infection in humans. These are related to complex interactions between the genotype of the pathogen, environmental factors, host immune responses and host susceptibility (or predisposition), among others. Therefore, through a comprehensive systems based approach, we are investigating the molecular factors that modulate severe IV disease in humans. Sequence analysis of viruses obtained from infected individuals revealed a high level of genomic diversity and rare underrepresented mutations in all viral segments. We identified a temporal change in the viral genome in a subset of individuals, suggesting the possibility of genetic drift during acute infection. Similarly, evaluation of the microbiome structure of the upper respiratory tract (URT) of infected individuals, showed a dynamic change of the diversity and abundance of the basal microbial flora overtime. Specific bacteria such as *Pseudomonas* and *Staphylococcus* increased in abundance infection, suggesting that early immune responses are possibly having a dramatic effect on the microbiome structure in the URT. Detailed examination of innate immune responses of infected individuals during the acute phase of infection (days 1-4), showed a deregulated response that included a substantial increase of the pro-inflammatory cytokines IFN- $\alpha$ 2, IL-1b, IL-6 and TNF $\alpha$ ; the chemoattractant chemokines IL-15, 8, MCP-1, MIP1a and IP10 and of the anti-inflammatory cytokine, IL-10, as compared to ambulatory subjects. We speculate that deregulated immune responses are unable to clear the virus efficiently allowing it to replicate and mutate, while it also contributes to the modulation of the URT microbiome, which can lead to an increased susceptibility to colonization by pathogenic bacteria.

Proyecto de Inserción Capital Humano en la Academia 79100014, FONDECYT 1121172, 1161791, and Proyecto Anillo PIA ACT 1408 all from CONICYT; and Program Iniciativa Científica Milenio from the Chilean Ministry of Economy, Development and Tourism grant P09/016-F.

## Avances en el estudio de comunidades microbianas de fiordos y canales Patagónicos

**Gutiérrez M H**<sup>1</sup>, Pantoja S<sup>1</sup>, Daneri G<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Oceanografía y COPAS Sur-Austral, Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Copas Sur-Austral Centro de Investigación en Ecosistemas de la Patagonia.

El ecosistema de fiordos y canales Patagónicos juega un rol clave en el procesamiento de materia orgánica terrestre y marina, el ciclo del carbono y el intercambio de CO<sub>2</sub> con la atmósfera en el Pacífico Sur Oriental. Debido a la ocurrencia de fuertes gradientes ambientales, la presencia de extensos campos de hielo y la creciente acción antropogénica, este ecotono es considerado altamente sensible a los cambios proyectados para los sistemas costeros durante el antropoceno. Uno de los componentes biológicos clave en los flujos de carbono de fiordos Patagónicos son los microorganismos, sin embargo su composición y estructura comunitaria y su respuesta a variaciones ambientales permanecen prácticamente desconocidas. Con el objetivo de contribuir al conocimiento de las comunidades microbianas del ecosistema Patagónico y analizar el potencial impacto de perturbaciones ambientales naturales y antropogénicas sobre su estructura, hemos estudiado en detalle la variabilidad espacial y temporal de la composición de microorganismos en un fiordo expuesto al flujo de agua de deshielo glaciar y otro sujeto a fuertes variaciones temporales en sus características fisicoquímicas, diferentes fuentes de materia orgánica y a la acción intensiva de la industria salmonícola. La caracterización taxonómica de arqueas, bacterias y hongos en agua y sedimento fue realizada a través del análisis de secuencias del gen del rARN obtenidas mediante las plataformas Roche 454 e Illumina.

Nuestros resultados muestran segregación vertical en la composición de microorganismos planctónicos, así como cambios temporales asociados a variaciones en las características fisicoquímicas de la columna de agua. Adicionalmente, durante periodos de alto deshielo glaciar evidenciamos fuertes cambios en la composición de bacterias y hongos, con una predominancia de taxones representativos de ambientes fríos y de baja salinidad. Nuestras observaciones han contribuido a identificar patrones de respuesta ante potenciales escenarios de cambio propuestos para el ecosistema Patagónico.

FONDECYT 11110515 y 1131063; COPAS Sur-Austral (CONICYT PIA PFB31).

# SIMPOSIO 5

## RETROVIRUS

Coordinador: Dr. Marcelo Lopez-Lastra

### **HIV-1 gene expression is modulated by ACDs that promote the assembly of SGs**

**Valiente-Echeverria F<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas - Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Following infection, the host cell initiates an anti-viral immune response to create an inhospitable environment for viral replication, causing both the shut-off of protein synthesis and stress granules (SGs) assembly. SGs are translationally silent ribonucleoproteins (RNPs) and serve as storage sites for mRNAs. Studies have revealed that HIV-1 Gag protein suppresses SG assembly, but when not possible, it not only lifts the SG blockade, but also results in impaired virus production and infectivity. Given that several reports have been shown that anti-carcinogenic drugs (ACDs) can induce the assembly of SGs, we tested several type of ACDs (obtained from National program in antineoplastic pediatric drugs) on HIV-1 expressing U2OS cells. Our results suggest that ACDs modulates HIV-1 replication on cells that have SGs assembly, which indicates a potential use of ACDs as new and effective ARTs.

FONDECYT N°11140502.



## HIV-1-mediated repositioning of mTOR-laden late endosomes/lysosomes

Cinti A<sup>1</sup>, <sup>1</sup> McGill University, Canada.

HIV-1 co-opts the host translation and intracellular vesicular trafficking machineries for protein synthesis and to target viral and host components to sites of assembly. In this work we reveal how HIV-1 impacts these host machineries to guarantee propagation. First, HIV-1 enhances the activity of the master regulator of protein synthesis, the mammalian target of Rapamycin (mTOR) to ensure optimal viral proteins expression. Second, the virus commandeers mTOR-associated late endosome/lysosome (LEL) trafficking and counteracts metabolic and environmental stress-induced intracellular repositioning of LEL. We then show that the small Rag GTPases are required for the HIV-1-mediated LEL repositioning that is likely mediated by interactions between the Rags and the viral proteins, Gag and Vif. siRNA-mediated depletion of the Rags leads to a loss in mTOR association to LEL and a blockade of viral particle assembly and release at the plasma membrane, with a marked concomitant reduction in virus production. These results show that HIV-1 co-opts fundamental mechanisms that regulate LEL motility and positioning and support the notion that LEL positioning is critical for HIV-1 replication.

## Two ribosome recruitment sites direct multiple translation initiation events within HIV-1 Gag open reading frame

Deforges J<sup>1</sup>, Ameur M<sup>1</sup>, De Breyne S<sup>1</sup>, Ulryck N<sup>1</sup>, Chamond N<sup>1</sup>, Saadi A<sup>1</sup>, Ponty Y<sup>1</sup>, Ohlmann T<sup>1</sup>, **Sargueil B<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>UMR 8015 CNRS, Facultad de Farmacia, Université Paris Descartes.

In the late phase of the HIV virus cycle, the full length unspliced genomic RNA is exported to the cytoplasm and serves as mRNA to translate the Gag and Gag-pol polyproteins. Three different translation initiation mechanisms responsible for Gag production have been described. However to date a rationale for the involvement of that many translation pathways for gRNA translation is still missing. To further characterize the structure of the Gag IRES which has the singularity to be located within the Gag open reading frame we first probed its RNA structure. We developed an innovative integrative modelling approach and propose a novel secondary structure model for the Gag IRES. The minimal 40S ribosomal subunit binding site was then mapped using different assays. To our surprise we found that at least two regions within Gag IRES can independently recruit the ribosome. We further show that these two regions influence Gag translation both *in vitro* and *in cellulo*. These binding sites are mostly unstructured and highly A-rich, such sequences have been shown for another virus to attract the ribosome leading to many translation events in the vicinity. According to this mechanism we propose that one role of the Gag IRES could be to direct the translation of small peptides encoded in alternative reading frames that are known to influence the host immune response.

## Protein transfer by virus like particles

**Mangeot P<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Inserm U1111 Ciri Ecole Normale Superieure de Lyon.

This technological seminar will describe how our lab exploited different viral proteins to generate fusogenic viral-like particles loaded with proteins of interest. Exploiting the vesicular stomatitis virus envelope (VSVG) or the retroviral GAG polyprotein, we produced different kinds of microvesicles that efficiently deliver their proteic cargo into recipients cells without transfer of genetic material. Protein delivery achieved by this method is dose-dependent, transient, and poorly toxic when applied to primary fragile cell types. The seminar will present diverse examples such as delivery of receptors, transcription factors or genome engineering agents like the CRE recombinase. Importantly we recently engineered particular VLPs called NANOBLADES that deliver the components of the CRISPR/CAS9 machinery. Genetic cleavages mediated by NANOBLADES were achieved in a variety of cellular targets including primary human macrophages, fibroblasts and mouse embryo. Besides gene knock-out, this method also allows –although to a lesser extent- targeted insertion of cassettes/genes into the genome of recipient cells.

CIRI, Inserm, ENS-LYON

# SIMPOSIO 6

## INTERACCIONES HOSPEDERO-PATÓGENO

Coordinador: Dr. Nicolas Guiliani

**Identificación mediante CRISPR/Cas9 de factores que promueven la susceptibilidad humana a los Sistemas de Secreción de Proteínas Tipo III (T3SS) de *Vibrio parahaemolyticus*** (CRISPR/Cas9 screens reveal factors that promote human susceptibility to the bacterial Type III Secretion systems (T3SS) of *Vibrio parahaemolyticus*)

**Blondel C<sup>1</sup>**, Park J<sup>1</sup>, Hubbard T<sup>1</sup>, Pacheco A<sup>1</sup>, Kuehl C<sup>1</sup>, Walsh M<sup>1</sup>, Davis B<sup>1</sup>, Gewurz B<sup>1</sup>, Doench J<sup>2</sup>, Waldor M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Department of Microbiology and Immunobiology and Division of Infectious Diseases Harvard Medical School and Brigham and Women's Hospital. <sup>2</sup>Genetic Perturbation Platform Broad Institute of MIT and Harvard .

Type III secretion systems (T3SSs) inject bacterial effector proteins into host cells and underlie the virulence of many Gram-negative pathogens. Despite our knowledge of T3SS structure, assembly and function, our understanding of host factors that enable the targeting of T3SSs to host cells is more rudimentary. The Gram-negative marine bacterium *Vibrio parahaemolyticus* is a leading cause of gastroenteritis linked to the consumption of contaminated seafood in the world. All *V. parahaemolyticus* strains encode a T3SS on their large chromosome (T3SS1). In 1996, a new clonal strain, of the O3:K6 serotype, emerged and has been responsible for the major outbreaks of *V. parahaemolyticus* in Chile and the world since 2005. Notably, genome sequencing of this clone revealed the presence of a new and evolutionarily distinct T3SS (T3SS2). Studies have shown that T3SS2 is the major virulence factor of the pandemic clone and T3SS2 increases the fitness of *V. parahaemolyticus* against marine bacteriophage protists. The development of CRISPR/Cas9 technology, which allows generation of complete loss-of-function alleles, is transforming functional genetic analyses in higher eukaryotes. In this work, we used CRISPR/Cas9-based screening to identify disruptions in human protein coding genes that confer resistance to the activity of evolutionarily divergent T3SSs. These screens revealed that distinct host cell pathways confer susceptibility to T3SS1 and T3SS2 killing. Cell surface sulfation was important for bacterial adhesion and T3SS1 killing but dispensable for T3SS2 killing. In contrast, T3SS2 killing was dependent on cell surface fucosylation, which was critical for T3SS2 translocon insertion into host cell membranes. Thus, there is significant heterogeneity in the host factors targeted by different T3SSs. These findings reveal the importance of ubiquitous surface modifications for T3SS function, potentially explaining the broad tropism of *V. parahaemolyticus* towards eukaryotic cells, and highlight the utility of genome-wide CRISPR/Cas9 screens to discover processes underlying host-pathogen interactions.

Howard Hughes Medical Institute. Pew Latin American Fellows Program in the Biomedical Sciences. Becas Chile

**El pili de tipo IV de *Neisseria meningitidis* actúa como un andamio extracelular que reestructura la membrana plásmica** (*Neisseria meningitidis* type IV pili act as extracellular scaffolds for plasma membrane remodeling)

Dumenil G<sup>1</sup>, Charles-Orszag A<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Institut Pasteur France. <sup>2</sup>Pathogenesis of vascular infections unit, INSERM, Institut Pasteur Pasteur.

*Neisseria meningitidis* is a bacterium that is found in the human nasopharynx microbiota. Occasionally, it can cross the epithelium and reach the blood vessels where it can bind to endothelial cells through retractile fibers called type IV pili (TFP). While proliferating extracellularly as microcolonies, bacteria reshape locally the plasma membrane in the form of filopodia-like protrusions. Infected blood vessels are eventually damaged, causing life-threatening conditions such as septic shock and meningitis. Since plasma membrane remodeling allows bacteria to resist blood flow-generated shear stress, it is a crucial step in meningococcal pathogenesis but the underlying mechanisms remains unknown. Our previous work shows that this remodeling does not depend on actin polymerization or pilus retraction, prompting us to further explore the spatial relationship between type IV pili and cellular protrusions. Super-resolution imaging shows the complex network formed by TFP and protrusions entangled in the meshwork. Electron microscopy following high pressure freezing and freeze substitution reveals that protrusions are tightly wrapped in a dense network formed by TFP. Using dark field live cell imaging, we observed that individual bacteria are able to trigger one to seven dynamic filopodia-like protrusions around the bacterial body within seconds after adhering to the host cell. We further show that pili retraction allows protrusion disappearance. Altogether, these data indicate that the complex pilus network physically induces and traps the cellular protrusions.

## Dinámica de la interacción hospedero-patógeno *in vivo* en hospederos alternativos (Dynamic imaging of host-pathogen interaction in surrogate host models)

Chávez F<sup>1</sup>, Varas M<sup>1</sup>, Ortiz-Severin J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Microbial infections are characterized by a constant interplay between pathogen and host with pathogens exploiting an array of host cell functions during infection and their hosts reacting with appropriate defense response. To understand this complex interaction, scientist have been turning their efforts from the traditional focus on responses to model antigens to a new focus on *in vivo* infection models. The use of mammalian models to identify and understand the virulence factors of human pathogens is essential. However, to overcome the limitations associated with using mammalian models of infection for visualizing the dynamic of host-pathogen interaction, researchers have turned to analyzing this interplay in surrogate hosts. Important features of host-pathogen interactions have been discovered using non-mammalian hosts. Therefore, model hosts such as the nematode *Caenorhabditis elegans*, the social amoeba *Dictyostelium discoideum* and the zebrafish *Danio rerio* have been increasingly used for *in vivo* host-pathogen interaction studies. In addition, live-cell imaging studies on these model hosts benefit from online resources and databases (Dictybase.org, ZFIN.org, Wormbase.org) with genetic and genomic tools that have been generated over the years by the relatively large scientific communities using each of these models. A major challenge for studying intracellular bacterial pathogens is to understand the molecular bases of disease development during host infection. Knowledge about virulence factors abundance is therefore crucial to gain a quantitative view of the pathogenic functions. Although numerous proteomic studies of *in vitro*-grown microbial pathogens are well known for many pathogens, *in vivo* host-pathogen metaproteomic approaches are still unavailable. Here we used a combination of global proteomic profiling with ultra-performance liquid-chromatography mass spectrometry (UPLC-MS) with live cell imaging for deciphering host-pathogen interactions for *S. Typhimurium* and *P.salmonis*. By approaching the *in vivo* dynamic of host-pathogen interaction with a systems biology approach we discover novel virulence factor and host defense mechanism in these important intracellular pathogens.

Proyecto Fondecyt Regular 1120209



## Roles of cyclic di-GMP in the control of bacterial membrane complex: the case of the Dot/Icm type IV secretion system of *Legionella pneumophila*

Vianney A<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Ecole Normale Supérieure, Université Lyon 1.

Cyclic di-GMP has emerged as almost ubiquitous regulator of bacterial physiology, controlling essential processes such as motility, virulence and biofilm formation. Besides the transcriptional or translational regulation of gene expression operated by the c-di-GMP, there are several examples of direct control of membrane protein complex, namely the flagellum, type IV pili or secretion systems.

Here, we present recent advances of our group in deciphering the orchestration of secretion of effectors by the Dot/Icm type IV secretion system of *Legionella*. Successful *L. pneumophila* infection requires this system to translocate an exceptionally large repertoire of effector proteins, about 300, into the host cytosol, allowing the endosomal degradation escape, the biogenesis of a *Legionella*-containing vacuole (LCV) and its intracellular replication in both environmental host cells or alveolar macrophages. Among the 22 potential c-di-GMP-metabolizing enzymes of *L. pneumophila*, 3 of them are specifically required for virulence and particularly in the early survival during host cell infection. The secretion efficiency of Dot/Icm effectors were tested in the 3 GGDEF/EAL mutant strains thanks to a translocation assay. Each mutant strain exhibits a differentially altered translocation compared to wild-type strain. Strikingly, while translocation of some effectors remained unchanged at several time points, others appeared over- and under-translocated. These results suggest that *L. pneumophila* uses cyclic di-GMP signaling to fine-tune effector delivery and ensure effective evasion of the host degradative pathways and establishment of a replicative vacuole.

# SIMPOSIO 7

## CIENCIA EN CHILE: CON MIRAS A UN NUEVO MINISTERIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Coordinador: Dr. Fernando Valiente-Echeverría

# SIMPOSIO 8

## FUNGAL GENOMICS: APPLICATIONS IN YEAST AND FUNGI

Coordinadores: Drs. Luis Castillo/Francisco Cubillos

**Actividad mitótica de las proteínas kinasas Saka(HOG1) y MpkC contribuyen a la virulencia de *Aspergillus fumigatus*** (Mitogen activated protein kinases Saka(HOG1) and MpkC collaborate for *Aspergillus fumigatus* virulence)

**Goldman G<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de Sao Paulo .

Here, we investigated which stress responses were influenced by the MpkC and Saka mitogen-activated protein kinases of the high-osmolarity glycerol (HOG) pathway in the fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. The  $\Delta sakA$  and the double  $\Delta mpkC \Delta sakA$  mutants were more sensitive to osmotic and oxidative stresses, and to cell wall damaging agents. Both MpkC::GFP and Saka::GFP translocated to the nucleus upon osmotic stress and cell wall damage, with Saka::GFP showing a quicker response. The phosphorylation state of MpkA was determined post exposure to high concentrations of congo red and Sorbitol. In the wild-type strain, MpkA phosphorylation levels progressively increased in both treatments. In contrast, the  $\Delta sakA$  mutant had reduced MpkA phosphorylation, and surprisingly, the double  $\Delta mpkC \Delta sakA$  had no detectable MpkA phosphorylation. *A. fumigatus*  $\Delta sakA$  and  $\Delta mpkC$  were virulent in mouse survival experiments, but they had a 40% reduction in fungal burden. In contrast, the  $\Delta mpkC \Delta sakA$  double mutant showed highly attenuated virulence, with approximately 50% mice surviving and a 75% reduction in fungal burden. We propose that both cell wall integrity (CWI) and HOG pathways collaborate and that MpkC could act by modulating Saka activity upon exposure to several types of stresses and during CW biosynthesis.

**La sinergia de diseño racional y la variación genética natural en una fundición biológica de alto rendimiento para la mejora de cepas industriales** (The synergy of rational design and natural genetic variation in a high throughput biological foundry for industrial strain improvement)

**Thompson D**<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ginkgo Bioworks USA.

Ginkgo Bioworks is the organism company. We design custom microbes for customers across multiple markets. In biological engineering, living organisms are the factories that build new products. Designing the best organisms requires a different sort of factory, one where the best tools in automation, analytics, and software can all work in sync. Bioworks is the world's first organism foundry, where engineers are prototyping thousands of biological designs. Organism engineers at Ginkgo learn from nature to develop new organisms that replace technology with biology. Rational metabolic engineering using the principles of synthetic biology are used generate strains that produce a molecule of interest. These strains are then crossed to diverse strains to incorporate natural genetic diversity and/or subjected to directed evolution approaches to select strains with improved performance and yield in industrial fermentations. Beneficial genetic variants underlying strain improvements are identified using principles of quantitative trait mapping. Recent advances and cost reductions in genomic technologies (e.g. next-generation sequencing) have significantly increased the power and resolution of these mapping approaches. The variants identified across approaches can be rapidly incorporated into the desired strain background using CRISPR-Cas9-mediated editing. At Ginkgo, we do this in high throughput leveraging the scalability of our foundries.

## Adaptación del vino y la flora levaduriforme (Adaptation of wine and flor yeast)

Legras J<sup>1</sup>, <sup>1</sup> INRA.

The yeast *Saccharomyces cerevisiae* is a model organism for evolution/ecology studies and is the most important microorganism for food and beverage production. Wine fermentation and biological ageing are performed by strains from two groups of *S. cerevisiae* with contrasting lifestyles: pelagic fermentative growth on glucose and fructose for wine yeast, and biofilm aerobic growth utilizing ethanol and glycerol of wine for flor strains. In this project, we used environmental populations of each yeast group to model yeast adaptation to anthropogenic environments. Different genetic analysis highlighted divergent regions between wine and flor yeast containing genes with potential non-neutral evolution, and several selective sweeps. These methods highlight key genes that are involved in *FLO11* regulation and biofilm growth, and reveal the presence of many allelic variations affecting several traits: sensing of osmotic pressure, divalent metal ion transport, or fructose preference of flor yeast. Notably, we could detect the accumulation of mutations in multiple genes in regulatory networks, as seen in the regulation of *FLO11*, the MAP kinase pathway, or the divalent metal ion transport, while for wine yeast we could detect non neutral evolution of different genes. The tuning of regulatory networks is clearly one of the hallmarks of domestication for flor yeast.

## Exploiting budding yeast natural variation for industrial processes through an RNA-seq approach

Cubillos F<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro en Ciencia y Tecnología de los Alimentos Universidad de Santiago de Chile.

Linkage mapping studies in model organisms have typically focused their efforts in polymorphisms within coding regions, ignoring those within regulatory regions that may contribute to gene expression variation. In this context, differences in transcript abundance are frequently proposed as a source of phenotypic diversity between individuals, however, until now, little molecular evidence has been provided. We examined Allele Specific Expression (ASE) in six F1 hybrids from *Saccharomyces cerevisiae* derived from crosses between representative strains of the four main lineages described in yeast. ASE varied between crosses with levels ranging between 28% and 60%. Part of the variation in expression levels could be explained by differences in transcription factors binding to polymorphic cis-regulations and to differences in trans-activation depending on the allelic form of the TF. Analysis on highly expressed alleles on each background suggested *GPD1* and *ADH3* as candidate transcripts underlying phenotypes of oenological interest between two strains. Further promoter allele swap analysis under fermentation conditions confirmed that coding and non-coding regions explained the observed phenotypic differences. Together, we provide a new catalogue of variants to bridge the gap between genotype and phenotype.



# SIMPOSIO 9

## MICROBIOMES FROM HIGH ALTITUDE AND LATITUDE ECOSYSTEMS

Coordinadores: Dras. Verónica Molina-Cristina Dorador

### New insights on the role of nitrogen recyclers in high latitudes marine ecosystems

**Fernández C<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> CNRS, Universidad de Concepción, LIA - MORFUN.

Marine primary production is sustained by either allochthonous nutrients or *in situ* – generated compounds via nitrification and ammonification. Correctly estimating both sources can help approaching the magnitude of marine carbon sequestration.

The Southern Ocean is one of the largest HNLC regions in the world. However, chronic limitation by dFe and Silicic acid are relieved via natural dFe fertilization near the Kerguelen plateau (49.25°S 69.58°E).

During the KEOPSII project, isotopic 15-N enrichments were used to measure nitrate regeneration (as either canonical nitrification or as stepwise reactions of ammonium and nitrite oxidation) along a productivity gradient during the onset of the phytoplankton bloom.

As seen in other productive systems (e.g. northern Patagonia), net nitrification was detected at all stations with higher rates north of the polar front (up to 60 nM d<sup>-1</sup>). Bacterial ammonium oxidation seemed to be dominant below the photic zone where it can sustain over 100% (up to 136%) of ammonium oxidation activity (max rates close to 80 nM d<sup>-1</sup>). On the contrary, archaeal nitrification seems to be active in surface waters and can be responsible for up to 70% of total ammonium oxidation. Nitrite oxidation on the other hand was in general higher than ammonium oxidation and could account for the entire potential for nitrate production. Exceptionally high rates were observed at st E4-E with 435 nM d<sup>-1</sup> which exceeds by 50 times the potential rates of ammonium oxidation for the same station. This suggests that 1) Within the nitrification process; oxidation steps attributed to specific functional groups show distinct variability and can be uncoupled in the water column. 2) NOB communities can potentially be fuelled by alternative NO<sub>2</sub> sources such as phytoplankton excretion. Therefore, assimilating net nitrification to the sole ammonium oxidation process can carry significant underestimations of the potential for nitrate recycling in the southern ocean.

Fondecyt 1100358 and 1150891; Fondap INCAR; Fondap IDEAL; COPAS SA.

## Registro de la concentración de células procariotas en testigos de hielo profundo y sus implicaciones (Prokaryotic cell concentration records from deep ice cores and their implications)

Santibáñez P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Sección Cambio Climático, Departamento Científico, Instituto Antártico Chileno (INACH) .

Los Prokaryotas (dominios Archaea y Bacteria) son mediadores claves de los ciclos biogeoquímicos, por lo tanto tienen efectos sobre el funcionamiento de los ecosistemas. Entender los factores ecológicos que dan forma a las comunidades microbianas a través del tiempo son esenciales para entender la respuesta de los ciclos biogeoquímicos a los cambios ambientales y climáticos. El primer registro de concentración de procariotas no-fotosintéticos, con una prolongada escala temporal, fue adquirido con alta resolución y datado robustamente desde un testigo de hielo profundo, obtenido en el *West Antarctic Ice Sheet* (WAIS) Divide (79° S, 112° W). La adquisición de este registro se realizó usando un Sistema Continuo de Derretimiento de Testigos de Hielo (*Ice-core Melter System*), en combinación con un método de citometría de flujo diseñado para cuantificar células de procariontes en hielo. Este registro de concentración de procariontes (células mL<sup>-1</sup>) abarca desde 27.000 a 9.600 años atrás, y sus fluctuaciones coinciden con los principales periodos climáticos. Altas concentraciones de procariontes y baja variabilidad ocurren durante el Último Máximo Glacial (LGM: 26.000 - ~19.000) y el Holoceno temprano (EH: 11.600 - 9.600), en contraste al intervalo de la Última Deglaciación (LDG: ~19.000-11.600). La concentración de procariontes disminuye 7 veces coincidiendo con la transición de LGM/LDG y el pulso de agua de deshielo global ocurrida ~19,000 años atrás. La serie de tiempo de la concentración de procariontes presenta una periodicidad de ~1500 años con mayor amplitud durante LDG. Regresiones revelan relaciones significativas entre procariontes con aerosoles marinos (*sea-salt sodium*, ssNa) y emisiones terrestres (*black carbon*, BC). En conjunto, las regresiones estadísticas y correlaciones visuales indican que la variabilidad en la concentración de procariontes refleja los cambios regionales en medioambientes marinos de WAIS. Este registro demuestra que las concentraciones de Procariontes no-fotosintéticos responden a procesos medioambientales y climáticos a escalas de tiempo milenarias.

US National Science Foundation (NSF) grants 0440943, 0839075, 0839093, and 1142166. P. Santibáñez was founded by Chile Fulbright-CONICYT-BIO Scholarship and Priscu Research Group.

## Microbioma de ambientes fríos y la predominancia de bacterias raras en ecosistemas de altura (Cold environments microbiome and the predominance of rare bacteria in high altitude ecosystems)

**Dorador C**<sup>1,2,3</sup>, Miranda N<sup>3</sup>, Avalos V<sup>3</sup>, Molina V<sup>4</sup>, Hengst M<sup>5</sup>, Aran P<sup>3</sup>, Muñoz P<sup>3</sup>, Severino E<sup>3</sup>, Aguilar P<sup>6</sup>, Lavin P<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>2</sup>CeBiB Centro de Biotecnología y Bioingeniería. <sup>3</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. <sup>4</sup>Departamento de Biología and Programa de Biodiversidad Universidad de Playa Ancha. <sup>5</sup>Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte. <sup>6</sup>Lake and Glacier Ecology Research Group, Institute of Ecology, University of Innsbruck.

Los ecosistemas acuáticos ubicados en ambientes fríos están bajo temperaturas promedio cercanas a los 0°C durante casi todo el año. Esta prevalencia de temperaturas frías ha hecho que los microorganismos presenten adaptaciones específicas a estas condiciones que además, pueden fluctuar dramáticamente entre el día y la noche. A nivel comunitario se ha descrito que existirían patrones de distribución específicos en la llamada Biósfera fría. El estudio de la diversidad microbiana utilizando herramientas de secuenciación masiva ha permitido profundizar el entendimiento de la complejidad de las comunidades microbianas y de su prevalencia tanto a escala espacial como temporal, existiendo de esta forma un microbioma único tanto para un ambiente como para una condición particular. Estudios previos han determinado la posible existencia de patrones biogeográficos en grupos específicos de Bacteria, especialmente Cyanobacteria, restringida a ambientes fríos (Altiplano y Antártica). En este trabajo se presentan ejemplos de la distribución espacial del microbioma de ambientes fríos, incluyendo salares del Altiplano (Salar de Huasco), Lago de volcán (Llullaillaco) y glaciares (Glaciar Grey), con especial énfasis en la diversidad de bacterias de alta distribución y prevalencia como Proteobacteria, Bacteroidetes y Cyanobacteria, utilizando técnicas de secuenciación masiva (Illumina, MiSeq) mediante el análisis de la diversidad del gen 16SrRNA. Es fundamental que el país posea observatorios microbianos a largo plazo para estudiar no solo la variabilidad espacial sino que también, la variabilidad temporal de las comunidades microbianas presentes en ambientes fríos, los cuales a su vez están sujetos a cambios globales.

Fondecyt 1140179, 1140356; ELAC2014/DCC-0178; PIA-CONICYT FB N°0001

## Effect of the trace element contamination over bacterial populations from Fildes Peninsula (King George Island), Antarctic.

Lavin P<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad de Antofagasta.

Soil contamination with heavy metals, such as copper (Cu) zinc (Zn), cadmium (Cd), lead (Pb), mercury (Hg) nickel (Ni), chromium (Cr) and arsenic (As), is a widespread problem that affects several environments including pristine areas. Although Antarctica is often considered a remote and pristine environment, some ice-free areas have been subject to human impacts for 50 years or more. A high density of scientific stations is found in Arley Cove area, located on Maxwell Bay shoreline, Fildes Peninsula, King George Island, also one of the most impacted areas in Antarctica. Recent results have been shown the trace metal contamination in surrounding areas near to the Chilean (Escudero) and Russian (Belinghousen), mainly related to high levels of Zn, Pb, Cd, Cr and Ni produced by anthropogenic sources. Little is known about the bacterial community in Fildes Peninsula in such soil and less about the taxa common to polluted soil. We wanted to know the effect of different physicochemical factors over bacterial community present on impacted and non impacted area. The use of tag-16S rDNA (Miseq-Illumina) was performed to quantify bacterial taxa and determine variations on the bacterial community structure present in heavy metals contaminated soils from Fildes Peninsula. Most of the sequences were assigned to the Proteobacteria (Betaproteobacteria and Gammaproteobacteria) and Actinobacteria. No differences between bacterial communities of impacted and non impacted soils was found, but a decrease in bacterial richness was observed based on rarefaction analysis in samples with high concentrations (81-418  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) of lead (Pb). This study strongly points to the need for substantial efforts - starting with prevention measures and then the implementation of remediation technologies - to limit human-derived contamination impacts on the local environment and resident species and communities.

# SIMPOSIO 10

## MICROBIOLOGÍA SUR-AUSTRAL

Coordinadores: Drs. Jaime Figueroa -Ana María Zarraga

### ***Soil microbial communities and their functional diversity in differently managed agroecosystems***

**Miura T<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas Universidad Austral de Chile.

Soil microbial communities have a central role of soil ecological functions such as nutrient cycling, carbon sequestration and soil aggregate stability. Hence, it is fundamental to understand changes in soil microbial communities in response to environmental changes and anthropogenic disturbances. However, it remains unclear how agricultural activities affect soil microbial community structure and functions. I have investigated the effects of agricultural managements, such as tillage and fertilization, on soil microbial communities of highly weathered soils in a humid tropical region. Studies found that microbial communities shifted their composition and functionality in response to the agricultural managements, and these shifts may affect important soil processes that sustain crop productivity, such as carbon sequestration and major nutrient cycles.

**Programa de Biorremediación en la Patagonia. Una búsqueda de organismos remediadores en pasivos ambientales. (Bioremediation program in the Patagonia. Searching for bioremediator organisms in passive environment)**

**Valenzuela X<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Campus Patagonia, Campus Patagonia, Universidad Austral de Chile.

Los problemas de contaminación por metales pesados son problemas ambientales que afectan los ecosistemas y repercuten en la población. Uno de los principales orígenes antropogénicos de metales pesados es la industria minera de la cual no está exenta la Región de Aysén. Para mejorar esta situación se han estudiado tecnologías amistosas con el medio ambiente como lo es la biorremediación la cual consiste en utilizar organismos que sean capaces de inmovilizar, almacenar o extraer metales pesados sin afectar el entorno del sitio contaminado. Nuestro grupo de trabajo realizó una evaluación de un relave abandonado, y sus inmediaciones, ubicado en Puerto Cristal un pueblo en el cual se desarrolló una faena minera de extracción de plomo y cinc por aproximadamente 50 años. Nuestro objetivo fue buscar consorcios bacterianos y plantas con capacidades biorremediadoras. En relación a la metodología para la búsqueda de potenciales biorremediadores, se extrajo suelo desde tres sectores del interior del relave, más un control fuera del relave. Mediante el método de diluciones seriadas se aislaron 60 cepas de bacterias desde el suelo del relave y 20 desde el suelo control. Cada cepa se le determinó cualitativamente las enzimas:  $\beta$ -galactosidasa, celulasas, nitrato reductasa, proteasas y ureasas, sembrando las cepas en medios de cultivos selectivos o diferenciales que fueron incubados a  $23 \pm 2$  °C por 48 horas. El mayor y menor porcentaje de cepas positivas fueron para:  $\beta$ -galactosidasa con un 87, 2 %, y nitrato reductasa con un 24, 4 %, respectivamente. Los datos indican que potencialmente existen bacterias cuyo crecimiento podría estimularse agregando fuentes de carbono y nitrógeno al suelo de relave.

Proyecto financiado por FIC-Región de Aysén.



***Filogenias experimentales y evolución adaptativa en *Saccharomyces cerevisiae**** (Experimental phylogenies and adaptive evolution in *Saccharomyces cerevisiae*)

**Nespolo R<sup>1</sup>**, Paleo R<sup>1</sup>, Solano J<sup>1</sup>, Quintero-Galvis J<sup>1</sup>, Figueroa J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Uno de los aspectos más importantes del proceso evolutivo es la diversificación; es decir, el patrón temporal de generación de diversidad en linajes y rasgos. Las filogenias son hipótesis que describen cómo ocurrió esta diversificación, y se definen en base a una topología (i.e., el patrón de divergencia) y largos de rama (i.e., los tiempos de divergencia). Normalmente una filogenia está construida en base a numerosos genes nucleares, mitocondriales y/o cloroplásticos. En biología evolutiva, y particularmente en organismos multicelulares eucariontes (plantas y animales), existe un nutrido repertorio de métodos filogenéticos que permiten inferir mecanismos evolutivos en base a filogenias y rasgos. Sin embargo, estas aproximaciones son escasas en microorganismos. Por ejemplo, existen más de mil especies de levaduras (=hongos unicelulares), cuya diversificación comenzó hace unos 150 millones de años, pero sus relaciones filogenéticas son aún inciertas. Por otro lado, existen levaduras fermentativas, patogénicas, aeróbicas y anaeróbicas; para las cuales la determinación fenotípica es simple y económica, pero poco o nada se ha realizado en torno a asociarlas con los patrones filogenéticos. En esta charla intentaré mostrar el caso de las levaduras fermentativas, considerando a la capacidad fermentativa como "rasgo clave", motor de la diversificación. Luego comentaré un poco acerca de los métodos que permiten poner a prueba hipótesis evolutivas usando datos compilados, y también filogenias experimentales con *Saccharomyces cerevisiae*. Se espera transmitir la idea de que: (1) que la biología evolutiva es una herramienta necesaria y accesible para el microbiólogo pues (2) los microorganismos evolucionan bajo las mismas reglas que otros componentes del árbol de la vida.

FONDECYT 1130750

## **Bacterias epífitas de macroalgas Antárticas: Explorando su diversidad filogenética y su potencial bioactivo.** (Epiphytic bacteria from Antarctic macroalgae: Exploring their phylogenetic diversity and bioactive potential)

**Leiva S<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica & Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El ambiente marino de la Antártica posee una alta diversidad y endemismo de macroalgas. Sin embargo, existe poca información sobre la diversidad, rol ecológico y potencial biotecnológico de la microbiota bacteriana epífita asociada a especies de macroalgas antárticas. El objetivo de este estudio es explorar la diversidad filogenética y potencial biotecnológico de bacterias aisladas desde la superficie de macroalgas antárticas. Durante el verano austral de 2014, especímenes de macroalgas pardas (*Adenocystis utricularis*), verdes (*Monostroma hariotti*) y rojas (*Georgiella confluens*, *Iridaea cordata*, *Pantoneura plocamioides*, *Phycodrys antarctica*, *Pyropia endiviifolia* y *Plocamium cartilagineum*) se colectaron desde el intermareal y submareal de la Isla Rey Jorge, archipiélago de las Islas Shetland del Sur. Las bacterias epífitas se investigaron mediante una combinación de técnicas de cultivo, métodos de identificación molecular y estudios enzimáticos para evaluar la diversidad filogenética y su potencial para producir enzimas degradadoras de polisacáridos complejos (agar, carragenanos). La actividad antimicrobiana de las bacterias epibiontes se ensayó contra un panel de bacterias ambientales antárticas y microorganismos de importancia médica. El análisis de las secuencias del gen 16S rARN revelaron una rica diversidad de bacterias Gram positivas, la mayoría de ellas pigmentadas. Los epibiontes se afiliaron a 17 géneros de Actinobacterias (*Aeromicrobium*, *Agrococcus*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Brachybacterium*, *Citricoccus*, *Janibacter*, *Kocuria*, *Labeledella*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Pseudonocardia*, *Rhodococcus*, *Salinibacterium*, *Streptomyces*, *Sanguibacter* and *Tessaracoccus*) y dos géneros de los Firmicutes (*Staphylococcus* and *Planomicrobium*). El análisis polifásico indica que dos filotipos representan nuevas especies de actinobacterias. A su vez, cepas de los géneros Gram negativos *Cellulophaga* y *Pseudoalteromonas* destacaron como productores de agarasas y carragenasas. El análisis de la actividad agarolítica en el sobrenadante de cultivos bacterianos mostró actividad a bajas temperaturas (4 ° C), lo que sugiere la adaptación metabólica de estas bacterias al ambiente polar a través de la producción de enzimas activas a bajas temperaturas. Representantes de seis géneros de Actinobacterias mostraron actividad antimicrobiana (*Agrococcus*, *Brachybacterium*, *Citricoccus*, *Kocuria*, *Pseudonocardia* y *Streptomyces*), los cuales inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* y bacterias residentes de macroalgas.

Se concluye que las macroalgas antárticas albergan una comunidad bacteriana diversa con un alto potencial biotecnológico.

Instituto Antártico Chileno proyecto RT\_06-13. Proyecto Anillo ART1101 del Dr Iván Gómez.

# Simposio 11

## REGULACIÓN DE LA TRADUCCIÓN DEL MENSAJE GENÉTICO

Coordinador: Dr. Omar Orellana

**Papel de las modificaciones del RNA en la respuesta al estrés oxidativo.** (Role of RNA modifications in the response to Oxidative stress)

**Katz A<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las bacterias deben adaptar su proteoma a diversos cambios ambientales incluido el estrés oxidativo. En las últimas décadas se ha establecido que en el caso de *Escherichia coli*, gran parte de este cambio depende de la actividad de diversos factores transcripcionales entre los que destacan SoxR y OxyR. Sin embargo, salvo por el papel de algunos RNA pequeños, conocemos muy poco sobre el papel de la regulación a nivel traduccional. Por ello hemos realizado una serie de análisis sobre el papel de los tRNA, la eficiencia de lectura de diversos codones y la oxidación del mRNA en la respuesta al estrés oxidativo. Para ello hemos desarrollado una serie de técnicas genéticas, bioquímicas o basadas en secuenciación masiva y análisis bioinformático. Nuestros resultados indican que bajo estrés oxidativo solamente algunos RNA se oxidan incluyendo por ejemplo el rRNA 23S y el mRNA del gen que codifica para AldH. Adicionalmente, hemos observado que en estas condiciones se inactiva el tRNA de glicina (tRNA<sup>Gly</sup>) lo que induce la formación del segundo mensajero diadenosin tetrafosfato (Ap<sub>4</sub>A) y un cambio en la velocidad de lectura de algunos codones que codifican para glicina. Pensamos que en conjunto, estos cambios alteran el comportamiento individual y social de las bacterias, adaptandolo a las condiciones nutricionales del ambiente. Por ello, estos cambios serían complementarios a la regulación por OxyR o SoxR que depende fundamentalmente del estado redox de las células.

## Las “mutaciones silentes” pueden afectar la traducción y el plegamiento de las proteínas.

(Silent mutations can affect the translation and folding of proteins.)

**Moreira S<sup>1</sup>**, Maldonado J<sup>3</sup>, Gonzalez D<sup>3</sup>, Avalos F<sup>2</sup>, Tello M<sup>2</sup>, Orellana O<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina,, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Centro de Biotecnología Acuícola , Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>3</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Durante un largo tiempo se pensó que la redundancia del código genético era un fenómeno que no tenía mayores consecuencias en la traducción del mensaje genético. De hecho, las mutaciones sinónimas en los genes se denominaban “mutaciones silentes”. Sin embargo el sesgo en el uso de codones entre diferentes organismos así como dentro del genoma de un mismo organismo han hecho replantear las implicancias de este fenómeno. A su vez, se han identificado algunos efectos de cambios sinónimos de codones en la traducción y el plegamiento de proteínas que indican que no son silentes. En algunos casos se han detectado efectos en la estructura, procesamiento y/o vida media de los mRNA, en las interacciones de los mRNA con RNAs reguladores y en el plegamiento co-traducciona l de las proteínas codificadas. Sin embargo no se conocen las implicancias del sesgo en el uso de codones o de mutaciones sinónimas en la fisiología de los organismos.

Algunas de estas preguntas están siendo abordadas en nuestro laboratorio. Mediante el uso de modelos bacterianos estamos estudiando la relación entre el uso de codones sinónimos y la regulación de la traducción por RNA reguladores pequeños (sRNA) en genes del metabolismo de hidratos de carbono y en la respuesta a estrés. En levaduras estamos analizando el efecto de mutaciones sinónimas en el plegamiento de la enzima glicolítica fosfoglicerato quinasa 1 y en la proliferación celular. Los resultados preliminares muestran que cambios en el uso de codones sinónimos pueden provocar alteraciones entre las interacciones de los mRNA y los sRNAs que los regulan. También se observan cambios en los niveles de mRNA y alteraciones en el plegamiento de las proteínas que codifican. Se discutirán los alcances de estos hallazgos y las estrategias para profundizar en las bases moleculares de estos fenómenos.

Financiado por FONDECYT 1150834 a OO y FONDECYT Postdoctorado 3150366 a SM

## **Adaptación codogénica, y virulencia en virus que infectan a Salmónidos** (Codogenic adaptation and virulence in viruses that infect Salmonoids)

**Tello M<sup>1</sup>**, Valdés N<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Las infecciones virales son el principal desafío que enfrenta la Salmonicultura Chilena. La aparición de brotes de virus ISA o IPN han producido millonarias pérdidas que en algunos años han ocasionado el cierre de mas del 90% de los centros productores. En el proceso de infección viral, la expresión eficiente de las proteínas codificadas en los virus determina el éxito de la formación de partículas virales. Para lograr la adecuada producción de proteínas, los mRNAs virales contienen sitios de inicio de traducción fuertes, que aseguran el reclutamiento de ribosomas al mRNA y mecanismos que permiten reducir la traducción de las proteínas propias del hospedero. La eficiencia con la cual las proteínas del virus son producidas también depende de la disponibilidad de tRNAs que decodifican a los codones presentes en sus regiones codificantes. Para evaluar si la adaptación al pool de tRNA de los diferentes virus que infectan a Salmones está relacionado con la virulencia observada, se realizaron estudios bioinformáticos para relacionar la composición codogénica de los virus con el nivel de adaptación al pool de tRNA, mortalidad ocasionada y tiempo de aparición en los centros productores. Mediante esta aproximación se determinó que en ISAV e IPNV el grado de adaptación al uso de codones de *Salmo salar* es proporcional al tiempo en el cual las virus han estado infectando los centros productores de salmónidos, y que el grado de mortalidad ocasionada esta relacionado con la eficiencia en la traducción de la proteína HE presente en la envoltura de ISAV. Nuestros resultados permiten concluir que en virus que infectan a Salmónidos, el grado de adaptación a la maquinaria traduccional del hospedero determina en parte la virulencia observada y podría ser utilizado para evaluar el potencial impacto de nuevos brotes virales en la Salmonicultura.

CORFO-INNOVA 13CTI-21527 a MT

## Regulación de la expresión génica en VIH a través de epigenética de RNA

*(Regulation of HIV gene expression through RNA epigenetics)*

**Soto-Rifo R<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

HIV gene expression is a very complex process leading to the synthesis of 15 proteins from a single transcription product: the 9-kb full-length mRNA. While alternative splicing ensures the synthesis of regulatory, accessory and surface proteins, production of viral structural proteins and enzymes relies on the full-length mRNA in its unspliced form. HIV gene expression also involves an additional intricate post-transcriptional regulation involving non-canonical nuclear export pathways for viral mRNA export and the use of cap-dependent and cap-independent mechanisms for ribosome recruitment.

It was recently shown that eukaryotic gene expression is also regulated through reversible chemical modifications of the mRNA molecule. N6-methyladenosine or m<sup>6</sup>A is the most abundant internal modification involved in post-transcriptional regulation of gene expression at multiple steps ranging from mRNA splicing, nuclear export, translation and decay. Recent studies including ours revealed a novel layer of post-transcriptional regulation of HIV gene expression through the reversible chemical modification of adenosines residues within the viral mRNA. This novel regulation known as RNA epigenetics was shown to impact viral gene expression thus, opening exciting new ways for the development of antiviral drugs.

FONDECYT 1160176

# INCORPORACIONES I

## **Systems biology of *Pseudomonas* species: from pathogenesis to biotechnological applications**

**Poblete I<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

*Pseudomonas* species display a high metabolic versatility that allows them to thrive in a broad array of environments, ranging from soil to host organisms such as plants and humans. In this work we present a systems biology study of two important *Pseudomonas* strains namely *P. putida* KT2440 and the plant-pathogen *P. syringae* DC3000. *P. putida* strains have drawn a lot of attention in biotechnology due to its capacity to cope and metabolize toxic compounds, yielding a large portfolio of added-value chemicals. Driven by genome-scale models we have targeted several pathways with the aim of removing or incorporating genes that redirects carbon fluxes to increase the titer of the target compound. We have been able to increase the titer of various biopolymers and modulated their monomer composition via metabolic engineering. We have also reconstructed the first genome-scale model of the plant-pathogen *P. syringae* DC3000. Inspection of the metabolic functioning of the cell via a systems biology approach will allow both to deciphering the underlying mechanism that causes infection to plants and how metabolic pathways are regulated by signals produced by the host.

Fondecyt de inicio N 11150174



## Whole-Genome Sequencing Analysis of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Isolated in Chile Provides Insights into Possible Transmission between Gulls, Poultry, and Humans

**Toro M<sup>1</sup>**, Retamal P<sup>2</sup>, Ayers S<sup>3</sup>, Barreto M<sup>4</sup>, Allard M<sup>5</sup>, Brown E<sup>5</sup>, Gonzalez-Escalona N<sup>5</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Depto Medicina Preventiva, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.<sup>3</sup>Center for Veterinary Medicine US FDA.<sup>4</sup>Center of Biomedical Research, Fac. of Health Sciences, Universidad Autónoma de Chile.<sup>5</sup>Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) US FDA. (Sponsored by Angélica Reyes Jara)

*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Enteritidis is a major cause of human salmonellosis worldwide; however, little is known about the genetic relationships between *S. Enteritidis* clinical strains and *S. Enteritidis* strains from other sources in Chile. We compared the whole genomes of 30 *S. Enteritidis* strains isolated from gulls, domestic chicken eggs, and humans in Chile, to investigate their phylogenetic relationships and to establish their relatedness to international strains. Core genome multilocus sequence typing (cgMLST) analysis showed that only 246/4,065 shared loci differed among these Chilean strains, separating them into two clusters (I and II), with cluster II being further divided into five subclusters. One subcluster (subcluster 2) contained strains from all surveyed sources that differed at 1 to 18 loci (of 4,065 loci) with 1 to 18 single-nucleotide polymorphisms (SNPs), suggesting interspecies transmission of *S. Enteritidis* in Chile. Moreover, clusters were formed by strains that were distant geographically, which could imply that gulls might be spreading the pathogen throughout the country. Our cgMLST analysis, using other *S. Enteritidis* genomes available in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database, showed that *S. Enteritidis* strains from Chile and the United States belonged to different lineages, which suggests that *S. Enteritidis* regional markers might exist and could be used for trace-back investigations.

## INCORPORACIONES II

**Dinámica de la Colonización del Esmalte como Factor de Cariogenicidad en un Modelo de Caries con Biofilms de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*.** (Dynamic of Colonization to Enamel as Cariogenicity Factor in a Caries Model with Biofilms of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*)

**Díaz-Garrido N**<sup>1</sup>, **Kreth J**<sup>2</sup>, **Lozano C**<sup>3</sup>, **Giacaman R**<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Rehabilitación Oral, Laboratorio de Cariología Universidad De Talca. <sup>2</sup>Department of Restorative Dentistry Oregon Health & Science University. <sup>3</sup>Laboratorio de Bioquímica y Biología Oral Universidad de Chile. (Sponsored by Carla Lozano Moraga)

**Introducción:** La caries ha sido definida como una disbiosis o desequilibrio en la ecología del biofilm oral. Es posible que el orden con que colonizan los tejidos las especies comensales y patógenas, influya en la competición y en el posterior desarrollo de caries.

**Objetivo:** El objetivo fue evaluar si la dinámica de colonización, en términos del orden con que se establecen los biofilms, entre una especie comensal y una patógena influye en la cariogenicidad resultante.

**Metodología:** Se utilizó un modelo de caries previamente validado. Bloques de esmalte bovino cubiertos con saliva fueron inoculados con *S. mutans* UA159 (Sm) y *S. sanguinis* SK-36 (Ss) bajo distintas secuencias de colonización. Cinco grupos experimentales fueron probados: 1) *S. mutans* seguido por *S. sanguinis* (Sm-Ss), 2) *S. sanguinis* seguido por *S. mutans* (Ss-Sm), 3) *S. sanguinis* y *S. mutans* inoculados al mismo tiempo (Ss=Sm), y dos controles 4) *S. mutans* seguido por *S. mutans* (Sm-Sm) y 5) *S. sanguinis* seguido por *S. sanguinis* (Ss-Ss). Una vez maduros los biofilms fueron sometidos a desafíos cariogénicos con sacarosa 10%, 3 veces al día por 5 días. El medio de cultivo se cambió 2 veces al día y el pH fue medido después de cada cambio. Al terminar el experimento, el biofilm fue separado del bloque y se analizó la pérdida de dureza superficial (%PDS) como indicador de desmineralización, la biomasa, concentración de proteínas, producción de polisacáridos extracelulares e intracelulares. El experimento fue repetido dos veces, con cada condición en triplicado de manera tal que cada condición tuvo seis réplicas (n=6).

**Resultados:** Cuando *S. sanguinis* colonizó primero (Ss-Sm) la desmineralización se redujo en un 20%, comparado con *S. mutans* ( $p < 0,05$ ). Lo contrario ocurrió cuando *S. mutans* colonizó primero (Sm-Ss), en donde la desmineralización disminuyó sólo alrededor de un 5% ( $p > 0,05$ ). La menor acidogenicidad se detectó cuando *S. mutans* colonizó primero (Sm-Ss) ( $p > 0,05$ ). Grupos Ss-Sm y Ss=Sm mostraron una reducción de la biomasa de alrededor de un 60% ( $p < 0,05$ ). Proteínas y polisacáridos mostraron resultados con tendencia similar ( $p < 0,05$ ).

**Conclusión:** La dinámica de colonización entre *S. mutans* y *S. sanguinis*, parece modificar su relación de competición y afectar la cariogenicidad del biofilm oral.

FONDECYT 1140624 a RAG

## **Nuevo mecanismo de modulación negativa de la NF-κB inducido durante la infección por el virus de la diarrea viral bovina** (Novel mechanism into nf-κb negative modulation induce during bovine viral diarrhea virus infection)

**Villalba M<sup>1</sup>**, Frederickson F<sup>2</sup>, Canales N<sup>2</sup>, Maldonado N<sup>2</sup>, Garces P<sup>2</sup>, Arriagada V<sup>2</sup>, Otth C<sup>3</sup>, Olavarria V<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.<sup>2</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.<sup>3</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Carola Otth Lagunas)

The Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) is a Pestivirus belong to the *Flaviviridae* family; is the causative agent of a group of diseases including mucosal disease, reproductive failure and birth defects in calves, bovine respiratory disease, persistent infections and bovine immunosuppression; generating several economic losses in the livestock industry. BVDV initially infects epithelial cells, lymphocytes and monocytes, where it replicates and spreads throughout the body. BVDV produces weakening immunity of the infected animal, particularly alters the function of antigen presenting cells. Furthermore, it has been shown in *in vitro* approach, that BVDV induces decrease of important antiviral molecules necessary for defense signaling, such as proinflammatory cytokines (IL-8, IL-1 $\beta$ , among others). The expression of these genes is regulated by the Nuclear Factor κB (NF-κB) response elements. Currently, there is controversy about the role of BVDV on the NF-κB signal cascade activation. We propose that BVDV infection is able to alter the early expression of NF-κB dependent immunity genes, through IER3 and A20 modulation. Both negative regulators of NF-κB, have been previously described in human and murine models. Here, we report for the first time, that A20 and IER3 induce robust negative regulation of NF-κB activity in bovine cells. Besides, we found decrease expression of several early cytokine during BVDV infection, where these patterns could be modulated by these negative effectors. Interestingly, our results evidenced a strong increase of IER3 and A20 during BVDV infection. This is the first report showing the activation of A20 and IER3 factors by BVDV infection. This evidence, could be explain a possible mechanism, through NF-κB pathway regulation, that contribute to immunosuppression induced by BVDV in bovine.

FONDEF IT15110016, CORFO 12IDL2-16212, CONICYT DOCTORADO NACIONAL 21140744

## El rol de los polifosfatos inorgánicos en la interacción patógeno-hospedero *in vivo* entre *Salmonella* Typhimurium y diferentes modelos biológicos (The role of inorganic polyphosphates in the *in vivo* host-pathogen interaction between *Salmonella* Typhimurium and different biological models)

**Varas M A<sup>1</sup>**, Valenzuela C<sup>2</sup>, Riquelme S<sup>2</sup>, Ortiz-Serverín J<sup>1</sup>, Fariña A<sup>1</sup>, Marcoleta A E<sup>3</sup>, Aguilera P<sup>1</sup>, Sabag A<sup>2</sup>, Allende M<sup>4</sup>, Santiviago C A<sup>2</sup>, Chávez F P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio Microbiología de Sistemas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile <sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. <sup>4</sup>Centro FONDAF de Regulación del Genoma, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los polifosfatos inorgánicos son biopolímeros formados por residuos de ortofosfato que participan en diferentes procesos celulares como la resistencia a estrés químico o físico, la supervivencia en medio de cultivo y la virulencia bacteriana. El gen *ppk1*, que codifica la enzima polifosfato quinasa 1 encargada de la síntesis de los polifosfatos, es conservado en más de 20 especies patógenas. En *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*), un patógeno capaz de infectar un gran número de hospederos, se ha descrito que la delección de este gen provoca una baja expresión de los factores de virulencia, impide la invasión e infección sistémica del hospedero y afecta algunos procesos fisiológicos asociados con la virulencia, como la movilidad, la formación de biopelículas, la respuesta al estrés y la tolerancia al calor. Considerando que la virulencia de *S. Typhimurium* ha sido ampliamente estudiada en el modelo murino, donde se han determinado muchos de los genes requeridos en el proceso infectivo, y que los modelos biológicos simples como la ameba *Dictyostelium discoideum* y el pez cebra, *Danio rerio* ofrecen ventajas para los estudios de virulencia bacteriana debido a su fácil manipulación y rápido desarrollo, se propuso caracterizar *in vivo* la relación patógeno-hospedero entre *S. Typhimurium* y estos modelos de estudio y determinar el papel de los polifosfatos en la virulencia bacteriana. Se determinó que la cepa mutante *Dppk1* disminuye su capacidad de invadir y sobrevivir intracelularmente en *D. discoideum*, pez cebra y macrófagos murinos RAW264.7. Los determinantes moleculares de la interacción entre las cepas silvestre y *Dppk1* con los distintos hospederos fueron estudiados mediante metaproteómica *in vivo* con el fin de establecer relaciones evolutivas y determinar los mecanismos conversados en la relación patógeno-hospedero. Se determinó que la cepa silvestre expresa diferentes factores de virulencia en los tres hospederos en comparación a la cepa *Dppk1*, lo que podría explicar la baja supervivencia de la cepa mutante. Por otra parte, la cepa silvestre provoca la expresión de proteínas relacionadas con regulación del citoesqueleto, muerte celular y respuesta a estímulo tóxico en todos los hospederos, mientras que la cepa *Dppk1* no es capaz de generar este efecto.

Proyectos FONDECYT 1140754 y 1120209, Beca CONICYT de Doctorado Nacional 21120431.

**Identificación de nuevos genes involucrados en la formación de células “persisten” en *Escherichia coli* uropatogénica mediante secuenciación masiva.** (Transposon-sequencing analysis reveals novel genes involved in the generation of persister cells in uropathogenic *Escherichia coli*)

**Molina-Quiroz R<sup>1</sup>**, Lazinski D<sup>1</sup>, Camilli A<sup>1,2</sup>, Levy S<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Molecular Biology and Microbiology, School of Medicine, Tufts University.<sup>2</sup>Molecular Biology and Microbiology, School of Medicine, Howard Hughes Medical Institute. (Sponsored by Dr. José Manuel Pérez Donoso)

Uropathogenic *E. coli* (UPEC) is the main etiologic agent of chronic urinary tract infections worldwide. Relapsing infections have been associated with the generation of persister cells. This subpopulation is characterized by a transient non-hereditary dormant state that leads to tolerance to multiple classes of antibiotics.

In order to identify global regulators or metabolic pathways required to enter in a persister state, we used a high-throughput genetic selection to identify mutants with an increased fitness during exposure to a lethal concentration of ampicillin. A transposon library of UPEC strain CFT073 containing 360,000 mutants was exposed for 6 hours to ampicillin and survivors were subsequently enriched by growth in LB. Transposon insertion mutants exhibiting increased survival were identified by Transposon-sequencing (Tn-Seq).

We identified 50 genes under positive selection in our selection, including those involved in metabolic, envelope and stress responses. Altogether, our results indicate that (i) mutants with an impaired metabolism and/or unable to use different carbon sources enter into a persister state, (ii) decreasing turnover of peptidoglycan and/or inhibiting the expression of certain membrane proteins induces tolerance to ampicillin through envelope stabilization, and (iii) mutants with an impaired ability to respond to different types of cell damage might induce growth arrest, leading to a persister phenotype.

Moreover, we identified *cyaA* and *crp* promoter mutants in our screen. A role in persister formation of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) synthesized by CyaA (adenylate cyclase) has been shown previously. Further characterization of the role of cAMP in the generation of persister cells is currently under study in our lab. To validate our findings, we constructed mutants in 10 of the 50 genes identified in the screen. We confirmed increased survival to ampicillin exposure for 9 of the 10 mutants, thus confirming the results of our screen.

This work was funded by HHS|NIH| National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) (HH4134).

**Contribución de una subpoblación bacteriana tipo “persistente” a la transmisión de *V. cholerae* al ambiente acuático.** (A persistent-like sub-population contributes to the transmission of *V. cholerae* to the aquatic environment.)

**Silva-Valenzuela C A<sup>1</sup>**, Kahne S<sup>1</sup>, Lazinski D W<sup>1</sup>, Camilli A<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Department of Molecular Biology and Microbiology, School of Medicine, Tufts University.<sup>2</sup>Howard Hughes Medical Institute, Department of Molecular Biology and Microbiology, Tufts University School of Medicine. (Sponsored by Cecilia S Toro)

Diarrheal disease represents the second leading cause of death in young children worldwide. Among the pathogens responsible, *Vibrio cholerae* (*V. cholerae*) is a water-borne bacterium and causative agent of cholera, an acute intestinal infection that produces profuse secretory diarrhea and death from dehydration. The *V. cholerae* life cycle includes environmental and infectious stages. It can persist in fresh and salt water in temperate zones, and cause both sporadic and seasonal epidemics through the consumption of contaminated water and subsequent fecal-oral spread. Little is known about how *V. cholerae* adapts to, and persists in what are typically nutrient-poor aquatic environments such as pond water. In this context, it has been shown that the genes of *V. cholerae* that contribute to dissemination to the aquatic environment differ from the genes needed for transmission between hosts and that the major contributors to infection from contaminated pond water are culturable bacteria. After dissemination from humans to pond water *V. cholerae* suffer a ~50-fold drop in osmolarity of their environment and also encounter limited inorganic nutrients and carbon sources. Therefore, during cholera outbreaks, *V. cholerae* must adapt to the aquatic reservoir without losing its ability to infect the next host and, in the process, must also somehow resist this harsh environment. In this project, we developed a high-throughput analysis to identify the genes needed by *V. cholerae* to survive the osmotic shock by pond water and we establish that the presence of a persistent subpopulation of *V. cholerae* improves survival and viability in this environment.

This work was supported by NIH HH4051 and HS3306 to AC. CASV was supported by: Becas Chile postdoctorado (CONICYT)



# COMUNICACIONES ORALES



# COMUNICACIONES ORALES I

## **La proteína Rev de VIH-1 recluta la helicasa de ARN eIF4AIII al ARNm completo para promover la síntesis de Gag (HIV-1 Rev protein recruits RNA helicase eIF4AIII to the unspliced mRNA to promote Gag synthesis)**

**Rojas-Araya B<sup>1</sup>**, Toro-Ascuy D<sup>1</sup>, Garcia-De F<sup>1</sup>, Dellarossa A<sup>1</sup>, Soto-Rifo R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Virología, pabellón J, ICBM, Medicina, Universidad de Chile.

Durante la replicación del VIH-1, la ARN polimerasa II celular genera un transcrito único de 9-kb (ARNm completo) el cual en etapas tempranas es totalmente procesado por el *spliceosoma* generando los transcritos de 2-kb. Estos ARNm virales son utilizados para la síntesis de las proteínas Tat, Rev y Nef. En etapas posteriores se generan los transcritos parcialmente procesados de 4-kb de los cuales se sintetizan las proteínas Env, Vpu, Vif y Vpr además del ARNm completo que es utilizado para la síntesis de Gag y Gag-Pol. Los transcritos virales de 2-kb se comportan como ARNm celulares reclutando al *Exon Junction Complex* (EJC) durante *splicing*. Este complejo, se compone principalmente por la helicasa de ARN eIF4AIII, el heterodímero Magoh/Y14 y Barentz, este complejo es posicionado por el *spliceosoma* 20 a 24 nucleótidos río arriba de cada unión exón-exón y está implicado en diferentes aspectos del metabolismo del ARNm: exportación nuclear, localización, traducción y control de calidad. Los transcritos de 4-kb y el ARNm completo al poseer intrones son retenidos y degradados en el núcleo a menos que la proteína viral Rev esté presente. Rev interactúa con una región específica de estos transcritos denominada Elemento de Respuesta a Rev (RRE) y junto al factor de exportación nuclear CRM1, favorece la exportación de los ARNm con intrones hacia el citoplasma por una vía alternativa. Este trabajo da cuenta que eIF4AIII, pero no otros componentes del EJC, es retenida en el citoplasma co-localizando con el ARNm completo. Consistente con una función en la expresión génica, nuestros datos muestran que una sobreexpresión de eIF4AIII aumenta la síntesis de la proteína viral Gag en una manera dependiente de la proteína Rev. Consistente con estas observaciones, determinamos que la proteína viral Rev interactúa con eIF4AIII impidiendo que esta se asocie con el heterodímero Magoh/Y14. Estos datos sugieren que la proteína Rev es capaz de reclutar a eIF4AIII al ARNm completo para promover la síntesis de Gag

Fondecyt n° 11121339

DRI USA2013-0005

Fondecyt n° 1160176

**La infección persistente por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium promueve inflamación intestinal crónica en ratones susceptibles** (Persistent *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection promotes chronic intestinal inflammation in susceptible mice)

**Schultz B**<sup>1,2</sup>, Salazar G<sup>1,2</sup>, Paduro C<sup>2</sup>, Pardo-Roa C<sup>1,2</sup>, Pizarro D<sup>1,2</sup>, Salazar-Echegarai F<sup>1,2</sup>, Altamirano M J<sup>1,2</sup>, Torres J<sup>3</sup>, Riedel C<sup>4</sup>, Kalergis A<sup>5,1,2</sup>, Alvarez-Lobos M<sup>6</sup>, Bueno S<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Genética molecular y microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia. <sup>3</sup>Anatomía Patológica, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>4</sup>Ciencias Biológicas, Ciencias y Medicina, Andres Bello. <sup>5</sup>Endocrinología, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>6</sup>Gastroenterología, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Sponsored by Susan Bueno Ramirez)

**Introduction:** Inflammatory Bowel Diseases (IBD) are chronic intestinal immune disorders that include Crohn's disease and Ulcerative colitis. IBD are the result of an abnormal immune response in susceptible hosts, triggered by a genetic and environmental component, which generates a still unknown disease etiology. For these reason, several reports have described that infection with enteropathogenic bacteria, such as *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*), could be a risk factor for these diseases. **Methodology:** To evaluate the effect of *S. Typhimurium* infection on the onset of IBD, we used IL-10<sup>-/-</sup> mice, which spontaneously develop this disease. IL-10<sup>-/-</sup> mice were intragastrically infected with *S. Typhimurium* Wild Type (WT) or mutant for Type Three Secretion Systems (TTSS) encoded in pathogenicity island 1 and 2. On the seventh day, mice were treated with antibiotics to clear the bacterial infection and, after 42 days, inflammation was evaluated in the intestine and persistence of the bacteria in different organs. **Results:** We found that mice infected with *S. Typhimurium* showed increased levels of inflammation in ileum and colon as compared to non-infected mice. Importantly, IL-10<sup>-/-</sup> mice infected with a mutant *S. Typhimurium* lacking a functional Type Three Secretion System-2 (TTSS-2), which is unable to survive and replicate inside phagocytic cells, showed no intestinal inflammation. In addition, we detected persistent *Salmonella* infection in different organs of IL-10<sup>-/-</sup> mice after 42 days of infection, despite antibiotic treatment. **Conclusion:** Our results suggest that persistent *S. Typhimurium* infection promotes chronic inflammation in the intestine, which is probably related to TTSS-2 derived virulence factors.

This study was supported by grants Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología de Chile (FONDECYT) # 1100971, 1110604, 1140010, 1110397, 1030996, 1131012, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F.

## Respuesta no transcripcional de *Escherichia coli* al estrés oxidativo (Non-transcriptional response of *Escherichia coli* to oxidative stress)

Leiva L<sup>1,2</sup>, Pincheira A<sup>1,3</sup>, Elgamal S<sup>4</sup>, Ibba M<sup>4</sup>, Katz A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular Bacteriana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Escuela de Postgrado, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.<sup>3</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.<sup>4</sup>Department of Microbiology and The Center for RNA Biology Ohio State University.

Continuamente las bacterias montan mecanismos que le permiten tolerar condiciones de estrés oxidativo, producto de diversos factores ambientales. Sin embargo, el estudio de estas respuestas se ha centrado en los cambios transcripcionales que ocurren producto de dicha condición de estrés. Este trabajo se centra en variaciones en el proceso de traducción y producción de segundos mensajeros, que también estarían formando parte de la respuesta a estrés oxidativo. Trabajo desarrollado en nuestro laboratorio ha determinado la disminución en la concentración de tRNA de glicina (tRNA<sup>Gly</sup>) activo, durante estrés oxidativo, produciendo diversos fenotipos. Adicionalmente, hemos observado que al evitar la disminución de tRNA<sup>Gly</sup> durante estrés oxidativo se previene la acumulación de diadenosin tetrafosfato, un dinucleótido capaz de ser producido por las aminoacil tRNA sintetetasas en ausencia de tRNAs, y cuya producción había sido reportada en estrés oxidativo. Hemos observado que si prevenimos la acumulación de este dinucleótido también se previene el uso de fuentes alternativas de carbohidratos bajo estrés oxidativo. Esto se suma a reportes anteriores que muestran efectos sobre la virulencia de *Salmonella*. Por otra parte, se analizó el impacto de la disminución de los tRNA<sup>Gly</sup> en la traducción de codones de glicina. Mediante un sistema de doble reportero fluorescente, hemos determinado que la eficiencia de traducción de uno de los codones de glicina se ve particularmente afectada durante estrés oxidativo, dependiendo de la disponibilidad de aminoácidos. Postulamos que la acumulación de diadenosin tetrafosfato y los cambios a nivel de la traducción de proteínas están contribuyendo a los cambios fisiológicos y proteómicos, necesarios para tolerar una condición de estrés oxidativo.

Fondecyt Iniciación #11140222 (AK); Conicyt Inserción a la academia #79130044 (AK); Beca CONICYT Doctorado Nacional (LL)

**Efecto de la diversidad alélica en la vía de señalización TORC1 sobre el consumo de nitrógeno en *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica.** (Effect of allelic diversity in the signaling pathway TORC1 on the nitrogen consumption in *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation )

**Molinet J<sup>1</sup>**, Cubillos F<sup>2</sup>, Martínez C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CECTA) Universidad de Santiago de Chile.

El nitrógeno es el segundo nutriente asimilado por la levadura durante la fermentación alcohólica, por lo que su consumo es clave para que *Saccharomyces cerevisiae* lleve a cabo este proceso. Deficiencias en las fuentes de nitrógeno se correlacionan con enlentecimientos y paradas en la fermentación, convirtiéndose en uno de los principales problemas en la industria vitivinícola. Estudios en esta área han demostrado que distintas cepas de *S. cerevisiae* presentan diferentes niveles de consumo de amonio y aminoácidos durante la fermentación alcohólica. Por otra parte, se sabe que la vía de señalización TORC1 es la encargada de detectar las señales nutricionales, principalmente el nitrógeno, y coordinar el crecimiento celular. Entre sus genes blancos destacan genes relacionados con el transporte y el metabolismo del nitrógeno, sin embargo, se desconoce cómo TORC1 puede impactar en las distintas cepas generando diferencias en el consumo de nitrógeno. Esta variabilidad podría ser resultado de diferencias en la vía de señalización debido a la diversidad alélica en ésta. Por lo tanto, con el objetivo de identificar variantes alélicas de la vía de señalización TORC1 involucradas en el consumo de nitrógeno, se seleccionaron genes candidatos participantes de esta vía a partir de un mapeo de QTL realizado a una población tetraparental, denominada SGRP-4X. Las variantes alélicas se validaron mediante ensayo de recíprocos hemicígotos, los cuales se fermentaron en mosto sintético y se determinó el contenido de nitrógeno mediante HPLC. De esta manera se seleccionaron 7 genes candidatos participantes en la vía TORC1: *GTR1*, *TOR2*, *SIT4*, *SAP185*, *EAP1*, *NPR1* y *SCH9*; los cuales se validaron en relación a su consumo de amonio y aminoácidos durante la fermentación. En conclusión, se identificaron variantes alélicas en genes con distintas funciones en la vía de señalización TORC1, cuya diversidad genética explica las diferencias en el consumo de nitrógeno en *S. cerevisiae*.

Proyecto ECOS-CONICYT C13B02, FONDECYT 1150522

## La inactivación del gen *glnA* incrementa la susceptibilidad de *Salmonella enterica* serovar Typhi a quinolonas (The inactivation of *glnA* gene increase the susceptibility to quinolones in *Salmonella enterica* serovarTyphi)

Millanao A<sup>1</sup>, Hidalgo A<sup>2</sup>, Villagra N<sup>2</sup>, Canales V<sup>2</sup>, Mora G<sup>2</sup>, <sup>1</sup>, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Laboratorio de Patogénesis Molecular y antimicrobianos, Medicina, Universidad Andrés Bello.

La rápida aparición de cepas de *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*) resistentes a los antimicrobianos requiere la comprensión detallada de los mecanismos de resistencia. Uno de estos mecanismos es la regulación metabólica. Se ha descrito por ejemplo, que elementos de las redes metabólicas tales como componentes de la cadena de transporte de electrones o el metabolismo de aminoácidos influyen en la susceptibilidad a antibióticos. Tras la realización de un *screening* fenotípico, bajo condiciones selectivas que incluyeron ciprofloxacino, cobre y benzalconio, a bacterias que forman parte de un cepario de 3.216 mutantes de la cepa *S. Typhi* STH2370 *zxx::EZ-Tn5*, se encontró la mutante STH2370 *glnA::EZ-Tn5* con aumento de la susceptibilidad a ciprofloxacino. El gen *glnA* codifica para la enzima glutamina sintetasa (GS), única ruta metabólica conocida para la síntesis de glutamina en Enterobacterias. De acuerdo a esto cabe preguntarse ¿Por qué la inactivación del gen *glnA* aumenta la susceptibilidad de *S. Typhi* a ciprofloxacino? Mediante la construcción de la mutante STH2370 *DglnA::FRT*, por intercambio alélico con una copia mutada seguido de la escisión del alelo mutado, para descartar efectos polares y la posterior comprobación de su fenotipo por ensayo de difusión en agar y determinación de la CIM, se encontró que, al igual que la mutante con la inserción hallada en el *screening*, STH2370 *DglnA::FRT* es dos veces más sensible que la cepa silvestre a ciprofloxacino y en mayor o menor medida a todas las quinolonas probadas. Luego, se analizó el perfil de proteínas de membrana externa (Omp) por SDS-PAGE, encontrándose que la mutante STH2370 *DglnA::FRT* tiene aumentada la porina OmpF respecto la cepa silvestre. Está descrito que una de las formas de ingreso de las quinolonas es a través de porinas, principalmente OmpF. De acuerdo a estas observaciones, postulamos que el cambio de la susceptibilidad a ciprofloxacino en la mutante *DglnA* podría deberse al aumento de la expresión de OmpF.

FONDECYT 1151393

**Expresión de miRNA involucrados en la respuesta inmune antiviral en la infección del virus ISA *in vitro*.** (Immune response related-miRNA expression during an *in vitro* ISAV infection.)

**Salazar C<sup>1</sup>**, Olivares J<sup>1</sup>, Marshall S<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. (Sponsored by Jorge Olivares Pacheco)

Durante una infección viral existen distintos niveles de interacción patógeno-hospedero, en el último tiempo se ha estudiado la importancia de los RNAs pequeños como nuevo nivel de interacción durante una infección viral, estos RNAs están involucrados en: evadir de la respuesta inmune antiviral, latencia viral y regular el ciclo de vida viral y/o celular. El virus ISA pertenece a la familia *Orthomyxovirus*, posee un genoma (-)ssRNA el cual está dividido en 8 segmentos. Su gran referente es el virus Influenza A, para el cual se han identificado RNAs pequeños virales los cuales participan de manera directa en el ciclo de vida viral, además de modular la expresión de miRNAs celulares durante una infección del virus. Ya que Influenza A es el modelo de ISAV, tiene sentido pensar que también se encuentren involucrados RNAs pequeños en el proceso infeccioso de ISAV. Se realizó una cinética de infección en células SHK-1 infectadas con la cepa patogénica HPR3 de ISAV, transcurridos los tiempos correspondientes se extrajo RNA (incluyendo RNAs pequeños) y se procedió a sintetizar cDNA a partir de miRNA y RNAs mensajeros. Luego se cuantificó relativamente, mediante PCR en tiempo real, la expresión de diversos miRNA involucrados en inhibir la respuesta antiviral, como por ejemplo miR-146, miR-155, miR-181, y la expresión de algunos mRNA blancos de estos miRNA junto con marcadores de inmunidad antiviral. Durante la cinética de infección se observa una modulación de la expresión de miRNA, en su mayoría disminuyen su expresión durante las horas analizadas pero otros miRNA como: miR-210 y miR-125 se ven levemente aumentados, teniendo un peak de expresión en los tres casos al quinto día de infección. Por lo tanto se puede concluir que la infección con virus ISA produce una modulación de la expresión de miRNA involucrados en la respuesta inmune antiviral *in vitro*.

Proyecto CONICYT 21120203.



## COMUNICACIONES ORALES 2

### **Identificación de cepas bacterianas de la microbiota intestinal asociadas a infecciones por *Escherichia coli* diarreogénicas** (Identification of bacterial strains from gut microbiota associated with diarrhoeagenic e. coli infections )

**Gallardo P<sup>1</sup>**, Izquierdo M<sup>4</sup>, Vidal R<sup>3</sup>, Rosselló- Móra R<sup>2</sup>, O´Ryan M<sup>3</sup>, Farfán M J<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>2</sup>Departament de Ecologia y Recursos Marinos, Grup de Microbiologia Marina , Institut Mediterrani de Estudis Avançats (CSIC-UIB).<sup>3</sup>Departamento de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>4</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

**Introducción.** Las cepas de *Escherichia coli* diarreogénicas (ECD) siguen siendo una causa importante de diarrea en menores de 5 años. Este proceso depende de la interacción del patógeno con factores ambientales como la microbiota intestinal. Diversos estudios han evidenciado que existe una alteración en la composición de la microbiota en infecciones diarreicas y que cepas de la microbiota intestinal pueden potenciar el proceso patogénico de cepas de ECD. **Objetivo.** Identificar cepas de la microbiota intestinal asociada a infecciones por ECD en niños menores de 5 años. **Metodología.** Se estudiaron muestras de deposiciones de niños entre 1 y 5 años, provenientes de Clínica las Condes analizadas mediante *Filmarray GI*<sup>®</sup> positivas exclusivamente para uno de los patotipos de ECD, un virus entérico, un patógeno bacteriano diferente a ECD y negativas para patógenos entéricos. Además, se analizaron muestras de niños sanos negativas para patógenos entéricos. En todas las muestras se amplificó y secuenció el gen del 16S ribosomal para luego realizar un estudio filogenético, que permitió identificar unidades transcripcionales operacionales. Estos se compararon con una base de datos de especies bacterianas cultivables, para determinar las principales especies de la microbiota asociadas cada grupo. **Resultados.** Resultados preliminares muestran variaciones en la microbiota en los diferentes grupos analizados. En el grupo ECD, se identificaron principalmente cepas pertenecientes a los phylum *Firmicutes*, *Preoteobacteria* y *Bacteroidetes*, siendo estos dos últimos predominantes en relación al resto de los grupos. En el análisis estadístico de las principales especies asociadas a cada grupo, se encontraron cepas de *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Ruminococcus* y *Veilonella* en mayor proporción en el grupo de ECD. **Conclusiones.** Nuestros resultados permiten identificar especies cultivables presentes en mayor proporción en las muestras de pacientes con infección por ECD.

Financiamiento. Fondecyt 1160426



**Efecto del virus de la necrosis infecciosa en la expresión de transcrito del sistema inmune innato en cultivo primario de cabeza de riñón de *Salmo salar*** (Effect of necrosis pancreatic virus on transcripts of the innate immune system in primary culture of *salmo salar* head kidney)

**Blanco J**<sup>2</sup>, Lagos F<sup>1,2</sup>, Isla A<sup>1,2</sup>, Figueroa J<sup>2,1</sup>, Haussmann D<sup>2,1,3</sup>, <sup>1</sup>Centro FONDAP Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), <sup>2</sup>Instituto de Bioquímica & Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, <sup>3</sup>Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Valdivia.

El virus IPN (IPNV) es el agente causante de la necrosis pancreática infecciosa, enfermedad que afecta principalmente a salmónidos en agua dulce y causa pérdidas millonarias a la acuicultura. En peces teleósteos, el sistema inmune innato es la barrera más importante a la hora de la defensa contra patógenos. Dentro del sistema inmune innato se encuentran diferentes proteínas que modulan la respuesta inmune. La necrosis pancreática infecciosa es catalogada como Enfermedad de alto riesgo por SERNAPESCA, por lo que es necesario el estudio de cómo el virus afecta al sistema inmune; para ello se estudió el efecto del IPNV en la expresión de transcritos del sistema inmune en cinéticas de infección *in vitro* en cultivo primario de cabeza de riñón de salmónes (*Salmo salar*). Para este estudio se propagó una alícuota de IPNV en la línea celular CHSE-214, y se calculó el TCID<sub>50</sub> mediante el método de Reed & Muench, para titular el virus, también se hizo una tinción de cristal violeta como método alternativo de titulación. Posteriormente se purificaron células en un cultivo primario de cabeza de riñón el cual fue sometido a una cinética de infección contra el IPNV, para finalmente cuantificar por medio de qPCR la expresión de marcadores relevantes en el sistema inmune innato. Se observó cambios en la expresión de estos transcritos, en células sometidas a infección por IPNV, especialmente de la familia de los interferones (IFN), los cuales son expresados en las primeras horas de infección, constituyendo la respuesta inicial frente a una infección viral. Este estudio se complementa con trabajos previos del laboratorio con peces naturalmente infectados con el virus y colaborará en la comprensión del proceso de infección viral y como el hospedero reacciona frente a esta infección.

Proyecto FONDECYT 1130069 y FONDAP 15110027.

## **Efecto del frío en la movilidad celular y producción de biopelículas de diferentes cepas de *Listeria monocytogenes*** (Effect of low temperature on bacterial mobility and biofilm production of different strains of *Listeria monocytogenes*)

**Maza F<sup>1</sup>**, Figueroa G<sup>1</sup>, Reyes-Jara A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. (Sponsored by Angelica Sofia Reyes Jara)

**Marco teórico:** *Listeria monocytogenes* (*Lm*) es una bacteria Gram-positiva, ubicua, psicrótrofa, que forma biopelículas en diversas matrices. La importancia del flagelo en la formación de biopelículas ha sido descrita, donde su ausencia se traduce en una reducción de la formación de biofilm. En nuestro laboratorio se analizó el perfil de expresión global de cepas de *Lm* con distinta capacidad de adaptación a frío, resultando en una represión de genes flagelares en aquellas cepas con rápida adaptación a frío. A partir de estos antecedentes, se plantea la siguiente hipótesis: "una menor expresión de genes flagelares a 8°C resulta en una menor capacidad de formar biofilm a 8°C".

**Metodología:** En cepas de *Lm* con diferente capacidad de adaptación a frío se evaluó a 8°C: la movilidad en medios semi-sólidos, la adhesión y la producción de biofilm en láminas de acero mediante cuantificación con cristal violeta, y la estructura de biofilm producido en láminas de vidrio mediante microscopía confocal. Finalmente se determinó el nivel de expresión de genes asociados a formación de biofilm durante diferentes tiempos de exposición a 8°C.

**Resultados:** Se observó una relación directa de la expresión de genes flagelares con la movilidad de las cepas, cepas rápidas menos móviles. La capacidad de formar biofilm fue independiente de la capacidad de adaptación a frío, sin embargo, se observó una colonización más estable en aquellas cepas con mayor expresión flagelar. Los estudios de expresión revelaron un patrón de expresión temporal de los genes de biofilm que resultó ser similar entre cepas pertenecientes al mismo grupo y que presentó un comportamiento variable en el tiempo.

**Conclusión:** La capacidad de adaptación a frío es independiente de la capacidad de formación de biofilm de *Lm*. Sin embargo, la estabilidad de las biopelículas disminuye en las cepas con menor expresión de genes flagelares (cepas rápidas).

Fondecyt 11121449

Proyecto ENL018/16

**Identificación a escala genómica de genes necesarios para la supervivencia de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium en la ameba *Dictyostelium discoideum*** (Genome-wide identification of genes required for the intracellular survival of *S. Typhimurium* in the amoeba *D. discoideum*)

**Labra B<sup>1</sup>**, Riquelme S<sup>1</sup>, Vellozo P<sup>1</sup>, Valenzuela C<sup>1</sup>, Sabag A<sup>1</sup>, Urrutia I<sup>1</sup>, Porwollik S<sup>2</sup>, McClelland M<sup>2</sup>, Álvarez S<sup>1</sup>, Santiviago C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Bioquímica y Biología molecular, Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Department of Microbiology and Molecular Genetics, School of Medicine, University of California, Irvine, CA, USA.. (Sponsored by Carlos Santiviago)

El género *Salmonella* incluye a más de 2.500 serovares, muchos de los cuales son patógenos que pueden causar desde una gastroenteritis autolimitada hasta una infección sistémica en distintos hospederos animales. Si bien se conoce bastante sobre los mecanismos moleculares que median la patogenicidad de *Salmonella* en hospederos animales, no se ha estudiado en detalle su supervivencia en el ambiente. En este nicho, *Salmonella* debe coexistir con diversos organismos depredadores, como protozoos y amebas. Recientemente, nuestro grupo demostró que *Salmonella* Typhimurium sobrevive intracelularmente en la ameba *Dictyostelium discoideum*. En este trabajo, buscamos identificar a escala genómica un conjunto de genes requeridos por *S. Typhimurium* para sobrevivir en esta ameba. Para esto, se infectó la *D. discoideum* con una mezcla compleja de mutantes por inserción de un transposón en *S. Typhimurium* 14028s y se recuperaron las bacterias intracelulares tras una hora (t=0) y 6 horas de infección (t=6). Las mutantes presentes en cada muestra se identificaron mediante secuenciación de un "código de barras" específico presente en cada transposón, usando el sistema HiSeq de Illumina. Se compararon ambas poblaciones de mutantes y se buscaron aquellas que disminuyeron significativamente en el t=6 con respecto al t=0. De este modo, se identificaron 186 mutantes bajo selección negativa, las que se categorizaron según distintos procesos funcionales. Dentro de los principales procesos identificados se encuentran el transporte y metabolismo de aminoácidos, la regulación de la transcripción y la biogénesis de la envoltura celular. Las mutantes pertenecientes a esta última categoría sugieren que el lipopolisacárido (LPS), principal constituyente de la membrana externa de bacterias Gram negativo, es de especial importancia en la supervivencia de *S. Typhimurium* dentro de la ameba. Esto, debido a que mutantes en genes relacionados con la síntesis de sus precursores, ensamblaje y modificación de su estructura se encuentran bajo selección negativa en *D. discoideum*. El rol de genes particulares relacionados a las modificaciones del LPS está siendo estudiado actualmente en nuestro laboratorio

Este trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT 1140754 y las becas CONICYT 21160818, 21140615, 22140758 y 21150005.

**Análisis a escala genómica de los genes que codifican RNAs de transferencia como sitios de integración de islas genómicas en *Klebsiella pneumoniae*.** (Genome-scale analysis of genes encoding transfer RNAs as integration sites for genomic islands in *Klebsiella pneumoniae*.)

**Berríos-Pastén C<sup>1</sup>**, Marcoleta A E<sup>1</sup>, Lagos R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Durante los últimos años, el reporte de cepas multiresistentes e hipervirulentas de *K. pneumoniae* ha registrado un aumento alarmante, alertando a las autoridades sanitarias y a la comunidad científica. Estudios recientes han mostrado que la evolución de dichas cepas está estrechamente ligada con su alta plasticidad genómica. Las islas genómicas (IGs) están involucradas en la transferencia horizontal de grandes fragmentos de DNA dotando a su hospedero de nuevas funciones biológicas, y en *K. pneumoniae* constituirían un importante reservorio genético de factores de virulencia. En la actualidad, no está del todo claro el mecanismo por el que las IGs se transfieren, ni tampoco los determinantes que controlan la selección del sitio de integración. Frecuentemente las IGs se integran en genes de tRNAs (tDNAs). Al respecto, se ha propuesto que sólo algunos tDNAs sirven como sitios de integración, pero se desconoce el por qué de la disparidad en su uso. En este trabajo, se analizaron los tDNAs presentes en el cromosoma de 52 cepas de *K. pneumoniae*. Usando herramientas bioinformáticas y curación manual de datos se identificó y caracterizó la totalidad de las islas genómicas asociadas a los cerca de 90 tDNAs propios de esta especie, y se determinó su frecuencia de uso como sitios de integración. Se observó que a pesar de que los tDNAs suelen estar repetidos en copias idénticas, éstas son utilizadas con distinta frecuencia, hecho que estaría determinado por el contexto genómico del sitio. Además, desarrollamos un nuevo sistema de nomenclatura para los tDNAs, que permite individualizar cada copia según su contexto. El análisis de cada tDNA permitió definir su contexto genómico virgen, es decir, cuando no está ocupado por islas genómicas, el cual es altamente conservado. Dicha información fue utilizada para implementar un método que permite la delimitación precisa de IGs en *K. pneumoniae*.

FONDECYT POSTDOCTORADO 3140496; FONDECYT REGULAR 1140430.

## **Herpes simplex virus tipo 1 altera la distribución mitocondrial de neuronas y queratinocitos (Herpes Simplex Virus Type 1 alters mitochondrial distribution in neurons and keratinocytes)**

**Cayo A<sup>1</sup>**, Caroca J<sup>1</sup>, Salazar P<sup>1</sup>, Acuña-Hinrichsen F<sup>1</sup>, Mella C<sup>1</sup>, Leyton L<sup>1</sup>, Otth C<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Centro Interdisciplinario de Estudios del Sistema Nervioso (CISNe) Universidad Austral de Chile.

Los virus modulan múltiples funciones dependiendo del tipo celular, donde las vías metabólicas y los niveles energéticos son fundamentales para completar satisfactoriamente la replicación viral; contexto en el cual la integridad mitocondrial durante infección es esencial. Herpes simplex virus tipo 1 (HSV-1) es un virus neurotrópico capaz de producir una infección persistente latente a nivel neuronal, presentando frecuentes cuadros de reactivación durante la vida del individuo infectado. A nivel epitelial produce infección productiva, que se manifiesta por la presencia de lesiones típicas de herpes labial. En base a lo anterior, se analizó la distribución mitocondrial en neuronas y queratinocitos durante una cinética de infección por HSV-1 (Cepa-F, Moi 10), a través de los marcadores mitocondriales TOM40 y Mitotracker; así como también de proteínas involucradas en inducir (PIN1) y bloquear (Bcl-2) apoptosis; y del marcador de DNA mitocondrial (DNAMt) *picogreen*. Mediante ensayos de inmunofluorescencia, microscopia confocal y *Western blot*, se observa que tanto en queratinocitos como en neuronas la infección por HSV-1 induce un cambio de distribución mitocondrial, acompañado de una disminución del DNAMt desde las 8 horas post-infección (hpi). Por otra parte, se observa que el marcador Bcl-2 se concentra en focos definidos a partir de las 8hpi, en contraste con la distribución citoplasmática homogénea observada en el mock, lo que refleja una activación de señales antiapoptóticas. Nuestros resultados sugieren que la infección por HSV-1 induce cambios en la distribución mitocondrial tanto en neuronas como queratinocitos, observándose una mayor definición de la red mitocondrial y de activación de vías de sobrevivencia.

Financiamiento FONDECYT 1150574.

## COMUNICACIONES ORALES 3

**Propiedades microbiológicas como indicadores de calidad en suelos agrícolas contaminados de Chile central.** (Microbial properties as soil quality indicators in contaminated agricultural soils from central Chile)

**Donoso P<sup>2</sup>**, Verdejo J<sup>1</sup>, Rojas C<sup>2</sup>, Neaman A<sup>1</sup>, Yáñez C<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Agronomía, Facultad de Ciencias Agronómicas y de los Alimentos, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <sup>2</sup>Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Efectos negativos por contaminación por metales se han reportado en suelos agrícolas de Chile producto de la actividad minera. Diversas propiedades microbiológicas han sido señaladas como útiles para evaluar la calidad de suelos contaminados por metales. Sin embargo, indicadores microbiológicos para calidad de suelos contaminados en Chile no han sido evaluados. El objetivo de este estudio fue determinar los efectos de propiedades fisicoquímicas y concentración de metales de suelos sobre varias propiedades microbiológicas para la predicción de calidad en suelos contaminados. El carbono de la biomasa microbiana, el recuento bacteriano y el perfil fisiológico a nivel de comunidad (CLPP) fueron las propiedades microbiológicas estudiadas. Se recolectaron 90 suelos desde Puchuncaví, Catemu y El Melón (Región de Valparaíso). Las propiedades fisicoquímicas de los suelos fueron determinadas por métodos rutinarios y las concentraciones de metales (Cu, Cd, Zn, Pb y As) por medio de espectrofotometría de absorción atómica. La C-biomasa microbiana fue determinada por el método de extracción-fumigación con cloroformo, recuento bacteriano por epifluorescencia y CLPP por medio de BIOLOG EcoPlates™. Las respuestas, índice de diversidad funcional AWCD obtenido por CLPP y recuento bacteriano fueron débilmente explicadas por todas las variables del suelo y localidades estudiadas. En contraste, la respuesta de C-biomasa microbiana en Puchuncaví fue relacionada a las concentraciones de Cu total/soluble, además de la conductividad eléctrica. En Catemu, en cambio, se relacionan a pH y  $pCu^{+2}$  y en El Melón, a los contenidos de arcilla. Las diferencias entre respuestas en las diferentes localidades se debieron principalmente a diferencias en el pH en los suelos. Para los suelos de Puchuncaví fue posible determinar la concentración media efectiva ( $EC_{50}$ ) para Cu total y soluble (346 y 0,62 mg/kg, respectivamente). En conclusión, la C-biomasa microbiana podría ser utilizada como un indicador de calidad de suelo, considerando los efectos de las propiedades fisicoquímicas.

Fondecyt Regular 1150503; Proyecto PUCV 122.735/2015.



## Efecto del cambio en los niveles de expresión del gen *pcz1* sobre la producción de ácido micofenólico en *Penicillium roqueforti* (Effect of change in levels of expression of the gene *pcz1* on the production of mycophenolic acid in *Penicillium roqueforti*)

**Rojas-Aedo J F<sup>1</sup>**, Gil-Durán C<sup>1</sup>, Vaca I<sup>2</sup>, García-Rico R O<sup>3</sup>, Chávez R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias básicas, Universidad de Pamplona.

*Penicillium roqueforti* es un hongo filamentoso importante en la industria alimenticia, pero ha sido muy poco estudiado. En este hongo, recientemente se ha identificado el gen *pcz1*, que codifica para una proteína tipo cluster binuclear de Zn (Zn(II)2Cys6). En estudios previos, se observó que cuando la expresión de *pcz1* es atenuada mediante RNA de interferencia (RNAi), se produce una drástica disminución en la tasa de conidiación en *P. roqueforti*, donde la tasa de conidiación máxima no superó el 19% en comparación con la cepa nativa. Dado que en la actualidad se sabe que la regulación del desarrollo asexual de los hongos se encuentra íntimamente vinculada con el control del metabolismo secundario, y que existen reguladores transcripcionales coordinando ambos procesos, incluidos reguladores transcripcionales del tipo dedos de Zn, es que en este trabajo se decidió explorar el posible papel del gen *pcz1* en el metabolismo secundario de *P. roqueforti*. Para ello, se usó como modelo el ácido micofenólico, un metabolito secundario producido por *P. roqueforti* de gran importancia farmacéutica como inmunosupresor, y cuya probable ruta de biosíntesis ha sido recientemente descrita por nuestro grupo. Para evaluar el efecto de *pcz1*, se generaron cepas de *P. roqueforti* con niveles de expresión alterados para este gen (expresión aumentada mediante sobreexpresión y expresión disminuida mediante RNAi). En ambos casos se midieron los niveles de producción de ácido micofenólico mediante HPLC y los niveles de expresión de tres genes de su ruta biosintética por Real-Time PCR. Los análisis mostraron que las cepas que presentaban atenuada la expresión del gen *pcz1* no produjeron cantidades detectables de ácido micofenólico a los 7 días de cultivo y los genes de la ruta presentaron un bajo nivel de expresión. En contraposición, las cepas que presentaban una mayor expresión del gen *pcz1* mostraron mayores niveles de producción de ácido micofenólico y una mayor expresión de los genes de la ruta biosintética a los 7 días de cultivo, en comparación con la cepa nativa. Los resultados sugieren que el gen *pcz1*, que codifica para una del tipo Zn(II)2Cys6, estaría regulando los niveles de producción de ácido micofenólico en *P. roqueforti*.

Proyecto Fondecyt general 1120833 y DICYT-USACH. Rojas-Aedo JF. y Gil-Duran C. han recibido financiamiento doctoral CONICYT-PFCHA/doctorado Nacional/2013-21130251 y CONICYT-PFCHA/doctorado Nacional/2014-63140056 respectivamente.



**Los microRNAs *mir-243*, *mir-51* y *mir-52* son requeridos para la formación de diapausa como mecanismo transgeneracional de defensa en *C. elegans* frente a patógenos bacterianos. (*mir-243*, *mir-51* y *mir-52* are required for diapause formation in *C. elegans* as a transgenerational defense mechanism against bacterial pathogens)**

**Gabaldon C<sup>1</sup>**, Verdugo L<sup>1</sup>, Legue M<sup>1</sup>, Martin A J<sup>2</sup>, Perez-Acle T<sup>2</sup>, Calixto A, <sup>1</sup>Centro de Genómica y bioinformática, Biotecnología, Universidad Mayor.<sup>2</sup>Laboratorio Biología Computacional Fundación Ciencia y Vida. (Sponsored by Universidad Mayor)

*C. elegans* entra en diapausa en respuesta a la inanición, altas temperaturas y altas concentraciones de feromonas, formando la larva dauer. Nuestro trabajo previo demostró que *C. elegans*, además forma dauers como un mecanismo de defensa transgeneracional ante los patógenos *P. aeruginosa* y *S. Typhimurium*, mediado por la maquinaria de RNA de interferencia (RNAi). Propusimos que en la comunicación bacteria-gusano, dsRNAs bacterianos gatillan un proceso dependiente de RNAi, generando endo-siRNA que son acumulados en la línea germinal y transmitidos a la progenie para promover la formación de diapausa (Palominos *et al.*, en revisión). Para entender cuáles son los efectores del gusano que se acumulan en respuesta a patógenos (small RNA y sus blancos mRNA), realizamos un análisis transcriptómico del RNA total de gusanos e identificamos un grupo de small RNAs y mRNA regulados diferencialmente en respuesta a *P. aeruginosa* PAO1 y *S. Typhimurium* MST1 en comparación con *E. coli* OP50 no patogénica. Dentro de los candidatos efectores se encuentran *mir-243*, *mir-51* y *mir-52*, sobreexpresados en respuesta a ambas bacterias patogénicas. Validamos *in vivo* la importancia de estos miRNAs, exponiendo cepas mutantes a patógenos y cuantificando la formación de dauer en la segunda generación. Animales *mir-243*, *mir-51* y *mir-52* no forman dauers, confirmando una causalidad directa entre estos miRNAs y la defensa transgeneracional ante patógenos. Los mRNAs blancos de estos miRNAs, fueron predichos usando IntaRNA, un predictor de interacciones RNA-RNA. Finalmente, analizamos redes de interacción *in silico* entre sRNAs y mRNA expresados diferencialmente, usando LoTo y Cytoscape, lo que nos permitirá tener una visión amplia del proceso de formación de diapausa transgeneracional en respuesta a patógenos.

## Revelando las capacidades funcionales y actividades del bacterioplacton en los ciclos del N y C en aguas costeras de Antártica. (Unveiling bacterioplankton functional capacities and activities in the N and C cycles at the Antarctic summer coastal waters)

**Alcamañ M E<sup>1,3</sup>**, Marchandon G<sup>1</sup>, Farias L<sup>2,3</sup>, Verdugo J<sup>2</sup>, Diez B<sup>1,3</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Oceanografía, Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. <sup>3</sup>Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia - (CR)2, Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile. (Sponsored by Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia - (CR)2)

Antarctic marine waters are defined as one of the most HNLC regions of the planet. However, the significance of N assimilation as well as the N<sub>2</sub> fixation by diazotrophs is poorly understood. In the other hand, nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) and ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) are the major forms of inorganic nitrogen used by phytoplankton. Actually functional metagenomics and metatranscriptomics analysis together with biogeochemical *in situ* studies are very scarce. The structure and functional activity of the bacterioplankton communities (Bacteria and Archaea) inhabiting surface waters of Chile Bay (62° 27' 600" S 59° 40' 600" W), in the South Shetland Islands, were analyzed on samples collected at day and night time during the summer of 2014 by metagenomics and metatranscriptomics. In parallel *in situ* assimilation of <sup>15</sup>N, <sup>15</sup>NO<sub>3</sub>, <sup>15</sup>NH<sub>4</sub> and <sup>13</sup>C isotopes was also examined. Our results showed a typical HNLC condition, 1.9 μM P (PO<sub>4</sub>) and 26.4 μM N (NO<sub>3</sub> and NO<sub>2</sub>). Low N<sub>2</sub> fixation rates (0.07 to 0.53 nmol N L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) and high <sup>15</sup>NO<sub>3</sub> and <sup>15</sup>NH<sub>4</sub> assimilations rates (3 to 5 times) during light condition were found. The later suggests that these processes are coupled with the high <sup>13</sup>C fixation rates (600-2300 nmol C L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), with markedly higher phototrophic activity (by eukaryotes) during the daytime. The diversity of the bacterioplankton was very similar between the samples, and metatranscriptomic analysis also demonstrated the major abundance and activity to Proteobacteria (Gammaproteobacteria and Alphaproteobacteria), and Flavobacteria. Interestingly, ammonia-oxidizing Archaea belonging to the genus *Nitrosopumilus* (Thaumarchaeota) and some Proteobacteria (*Nitrosomonas*) seem to be active chemoautotrophs, responsible for the nitrification process, according with the *amoA* gene activity. Thaumarchaeota are also possibly responsible for the nitrifier-denitrification (detoxifying nitrite), with potential contribution to N<sub>2</sub>O production in these marine Antarctic waters, according with the *nirK* gene activity. Therefore, Antarctic waters of Chile Bay presents ubiquity and high activity of Proteobacteria, Bacteroidetes and Thaumarchaeota, where the community assimilates more C and N during the light condition, due mostly to the activity of photoautotrophic eukaryotes. Finally, Thaumarchaeota could be responsible for most of the nitrification and potential nitrifier-denitrification with a potential contribution to the N<sub>2</sub>O production in Chile Bay.

Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia - (CR)2

**El factor de transcripción SlyA de *Salmonella Typhimurium* regula genes involucrados en respuesta a ROS generados en el proceso infectivo de neutrófilos murinos.** (The transcription factor SlyA of *Salmonella Typhimurium* regulates genes involved in response to ROS generated in the infective process in murine neutrophils).

**Cabezas C<sup>1</sup>**, Briones A<sup>1</sup>, Aguirre C<sup>1</sup>, Pardo-Esté C<sup>1</sup>, Castro-Severyn J<sup>1</sup>, Baquedano S<sup>1</sup>, Castro-Nallar E<sup>2</sup>, Saavedra C P<sup>1</sup>,  
<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Center for Bioinformatics and Integrative Biology, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

*Salmonella Typhimurium* es un patógeno intracelular capaz de causar fiebre sistémica en modelo murino. Durante la infección, *Salmonella* se enfrenta a distintos tipos de estrés, entre ellos, el estrés oxidativo generado por especies reactivas de oxígeno (ROS) que juegan un rol importante en la respuesta inmune. Dentro de las ROS, encontramos superóxido ( $O_2^-$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), que son altamente reactivas y afectan macromoléculas importantes. Por otra parte, el ácido hipocloroso (HOCl) generado por neutrófilos estimulados, ejerce una importante acción antimicrobiana. Sin embargo, *Salmonella* ha generado diversos mecanismos de defensa que regulan la expresión génica permitiendo una infección exitosa. Dentro de los reguladores clásicos frente a ROS encontramos a OxyR y SoxRS; otro factor involucrado en la regulación de genes bajo condiciones de estrés oxidativo es SlyA, el cual es capaz de activar genes que permiten la adaptación bacteriana cuando infecta al hospedero, principalmente involucrado en supervivencia y replicación dentro de macrófagos, considerándolo un importante factor de virulencia. Sin embargo, los genes blancos de SlyA involucrados en el proceso infeccioso son desconocidos. Se analizaron los cambios globales transcripcionales (RNA-seq) en cepas silvestre y  $\Delta slyA$ , expuestas a HOCl y  $H_2O_2$ , y se determinaron los posibles genes. Entre los genes que cambian su expresión, encontramos algunos relacionados con metabolismo central (*fruK*, *glpA*, *kgtP*), y virulencia (*sopE2*, *sopD* y *hilA*). Además, en ensayos de infección en neutrófilos murinos observamos el mismo perfil de expresión de los genes anteriormente mencionados. Para evaluar una regulación directa de SlyA sobre estos genes, realizamos ensayos de interacción con la región promotora, y medimos la actividad del promotor en las cepas de estudio. Por lo tanto, SlyA de *S. Typhimurium* es requerido para el proceso infectivo, debido a que modula la expresión de algunos genes de manera similar en condiciones *in vitro* como en neutrófilos infectados.

FONDECYT N° 1120384

FONDECYT N° 1160315

## COMUNICACIONES ORALES 4

### **Exploración de comunidades virales termófilas de tapetes fototróficos microbianos revelan el primer Podocyanovirus termal.** (Mining viral communities from thermophilic phototrophic microbial mats unveil the first thermal Podocyanovirus)

**Guajardo-Leiva S<sup>1</sup>**, Tamames J<sup>2</sup>, Diéz B<sup>3,1</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>2</sup>Centro Nacional de Biotecnología, Madrid, España.<sup>3</sup>Center for Climate Change and Resilience Research (CR)2, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile.

Thermophilic phototrophic microbial mats are stratified ecosystems with high microbial interactions and metabolisms, in which energy and element cycling take place over millimeter scale distance. Viruses are diverse, abundant and ecologically important components of these extreme environments, but their identity and host relationships are still largely unexplored in such microbial mat communities. Here, we surveyed the taxonomic composition of viral communities using metagenomics and metatranscriptomics mining methods in Porcelana a siliceous, pH neutral hot spring (Northern Patagonia, Chile) where phototrophic microbial mats, composed mainly by *Mastigocladus* and *Roseoflexus* genera, grow from 70°C to 46°C. Moreover, a comparison with other viral communities from Yellowstone hot springs was evaluated in order to determine potential convergence. Viral mining of reads in metagenomes and metatranscriptomes from 66, 58 and 48 °C temperatures, show that most of the viral signals belong to Caudovirales (70%) and Megavirales (20%) orders. Host assignation of caudovirus reads suggest that Cyanobacteria and Actinobacteria are the most frequent targets of viral infections in Porcelana. Assembly of full and partial genomes reveal a low level of nucleotide homology against viral genomes in NCBI databases, but 30 to 40% of amino acid conservation in core proteins, enough to discover the first genome of a thermophilic Cyanopodovirus associated to the thermophilic filamentous cyanobacteria *Mastigocladus* sp. Furthermore, a similar taxonomic composition at Porcelana and Yellowstone viral communities in phototrophic mats was found, even though the low homology at nucleotide level (K-mers). This study reveals for the first time the composition and structure of the viral community at thermophilic phototrophic mats over a temperature gradient, suggesting that filamentous cyanobacteria are a frequent target of caudovirus driven infections in such communities, and pointing that this new discovered cyanopodovirus could have global implications in *Mastigocladus* regulation.

CONICYT BECA NACIONAL DE DOCTORADO 21130667

FONDECYT N° 1110696, N° 11105171

## Asparagine tDNA-associated genomic islands: a major reservoir of virulence genes in *Klebsiella pneumoniae*

Marcoleta A<sup>1</sup>, Berríos-Pastén C<sup>1</sup>, Nuñez G<sup>1</sup>, Monasterio O<sup>1</sup>, Lagos R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Due to the developing of multi-resistant and invasive hypervirulent strains, *Klebsiella pneumoniae* has become one of the most urgent bacterial pathogen threats in the last years. Genomic comparison of a growing number of sequenced isolates has allowed the identification of putative virulence factors. In particular, those related with synthesizing the antibacterial peptide microcin E492 (MccE492) and salmochelin siderophores were found to be highly prevalent among hypervirulent strains. Several virulence factors from *K. pneumoniae* are thought to be encoded in genomic islands (GIs). These GIs were mainly found integrated into certain tRNA genes, being the genes encoding asparagine tRNAs (asn-tDNAs) proposed to be integration hotspots in this species. In this work, we analyzed all the publicly available assembled chromosomes from different *K. pneumoniae* strains searching for and characterizing a large set of asn-tDNA-associated GIs, and in particular the GIE492 island carrying the MccE492-production gene cluster. We found that 38 out of 52 strains harbored at least one GI integrated in one of the four asn-tDNAs present, confirming that these *loci* are integration hotspots in this species. A total of 47 GIs were categorized into 12 homology groups according to the carried genes. Among them, GIE492 corresponded to a highly conserved unstable element, which excision frequency increased after treating bacteria with mitomycin C and upon the overexpression of the island-encoded integrase. Besides the MccE492 genetic cluster, it invariably included an integrase-coding gene and a putative transfer origin that possibly allows this GI to be mobilized through conjugation. Asn-tDNA-associated GIs from other groups encoded a plethora of factors with proven or potential role in pathogenesis, constituting a major reservoir of virulence factors in this species, and sharing with GIE492 a conserved recombination module and potentially its mobility features.

FONDECYT POSTDOCTORADO 3140496; FONDECYT REGULAR 1140430

**Fenotipos de biopelícula en *Flavobacterium psychrophilum* revelan un patrón de expresión de genes de virulencia similar que difiere al de las células planctónicas** (Different phenotypes of biofilm in *Flavobacterium psychrophilum* reveal a similar pattern of virulence gene expression that differs from the observed pattern in planktonic cells)

**Levipan H A**<sup>1,2</sup>, Avendaño-Herrera R<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuicola, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

*Flavobacterium psychrophilum* es responsable por la "enfermedad del agua fría (BCWD)" y el "síndrome del alevín de la trucha (RTFS)" en la salmicultura mundial. Existen pocos estudios sobre la capacidad de esta bacteria para formar biopelículas y como estas agrupaciones difieren del estado planctónico. Aquí presentamos un estudio enfocado en biopelículas maduras y sus fases planctónicas utilizando 4 aislados chilenos de *F. psychrophilum*, la cepa JIPO2/86, y la cepa tipo NCMB1947<sup>T</sup>. El trabajo reporta resultados obtenidos mediante (i) microscopia confocal (SCLM) acoplada a la tinción LIVE/DEAD, (ii) perfiles enzimáticos, (iii) PCR cuantitativo de transcritos (RT-qPCR) de presuntos genes de virulencia (n = 6) y (iv) secuenciación del ARNm total (RNA-seq). *Flavobacterium psychrophilum* LM-02-Fp y NCMB1947<sup>T</sup> fueron las formadoras de biopelícula más fuerte y débil, respectivamente. La cepa LM-02-Fp mostró células con diferentes estados fisiológicos y distribuidas en diferentes capas de la biopelícula, mientras que la cepa tipo NCMB1947<sup>T</sup> siempre formó biopelículas en monocapa. Cinco de los genes estudiados por RT-qPCR (incluyendo el ADNr 16S) se transcribieron en una proporción cercana a 1:1 entre las biopelículas y los sobrenadantes. Además, entre los genes expresados diferencialmente (por RNA-seq) en las biopelículas respecto a las células planctónicas, se identificaron genes relacionados a la proteólisis, sistemas de dos componentes, movilidad, transporte de drogas a través de la membrana, transferencia horizontal de genes, biosíntesis de polisacáridos y adhesión. La mayoría de ellos fueron regulados positivamente en las biopelículas, exceptuando aquellos relacionados con la movilidad, que en su totalidad fueron regulados negativamente. Además, un conjunto diferente de transposasas, proteasas y adhesinas participaría, respectivamente, en la transferencia genética horizontal, proteólisis y adhesión en *F. psychrophilum* cuando la bacteria crece como biopelícula comparado a la fase planctónica. En conclusión, cepas que tienen diferentes fenotipos de biopelícula generan una respuesta transcripcional global en estado sésil que difiere sustancialmente de las células planctónicas, pero que es similar entre las biopelículas respecto a la expresión de genes asociados a la virulencia.

Proyecto FONDECYT Postdoctoral N° 3150505 y FONDECYT 1150695. FONDAP 15110027



## Formación de biopelículas e interacciones celulares entre arqueas térmocidófilas (Biofilm formation and cell interactions between thermoacidophilic archaeal species)

Zhang R<sup>1</sup>, Bellenberg S<sup>1</sup>, Neu T R<sup>2</sup>, Vera M<sup>3,4</sup>, <sup>1</sup>Biofilm Centre, Aquatische Biotechnologie Universität Duisburg-Essen.

<sup>2</sup>Department of River Ecology Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ). <sup>3</sup>Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Facultades de Ingeniería, Ciencias Biológicas y Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>4</sup>Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental, Escuela de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Biofilm formation of microorganisms on relevant surfaces is of great importance for biomining and acid mine drainage (AMD). Thermoacidophilic archaea like *Acidianus*, *Sulfolobus* and *Metallosphaera* are of special interest due to their ability to enhance leaching rates. Visualization and investigation of microbial attachment and biofilm formation of metal-oxidizing organisms up to now has been done mostly with mesophilic or moderately thermophilic bacteria. In this study, attachment and biofilms by the crenarchaeota *Sulfolobus metallicus* DSM 6482<sup>T</sup> and a new isolate *Acidianus* sp. DSM 29099 on sulfur prills or pyrite were analyzed. Confocal laser scanning microscopy (CLSM) combined with fluorescent dyes specific for nucleic acids or glycoconjugates were used to monitor biofilm formation on surfaces. The data indicate that cell attachment and the subsequently formed biofilm structures were species and substrate dependent. The investigation of binary biofilms on pyrite showed that both species were heterogeneously distributed on pyrite surfaces in the form of individual cells or microcolonies. Physical contact between the two species was visible, as revealed by specific lectins able to distinguish single species. In addition, glycoconjugates in biofilms were detected by fluorescence lectin-binding analysis (FLBA). Screening of 72 commercially available lectins resulted in the selection of 21 lectins useful for staining biofilms of *S. metallicus*<sup>T</sup>. Capsular EPS from planktonic cells were mainly composed of carbohydrates and proteins. In contrast, colloidal EPS from planktonic cells were dominated by carbohydrates. Proteins were found to be major components in EPS from biofilms on S<sup>0</sup>. Using specific probes combined with CLSM, we showed that extracellular proteins and nucleic acids were present in the EPS matrix.

**Keywords:** Bioleaching, attachment, biofilm, archaea, lectins

R. Z. acknowledges China Scholarship Council (CSC) for financial support (no. 2010637124).



## Estudio del efecto antioxidante de la cobalamina en la bacteria acidófila *Leptospirillum* sp. CF1: una aproximación transcriptómica y proteómica

Levican G<sup>1</sup>, Zapata C<sup>1</sup>, Ferrer A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile.

Los miembros del género *Leptospirillum* son bacterias hierro-oxidantes que participan en el proceso de biolixiviación de minerales para la recuperación de metales como el cobre. Los ambientes biolixivantes presentan una alta concentración de hierro y otros metales que favorecen la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), por lo que las bacterias del género *Leptospirillum* podrían sufrir estrés oxidativo. Nosotros hemos demostrado que en *Leptospirillum* sp. CF1 la protección antioxidante involucra un mecanismo basado en la cobalamina (vitamina B12). Esta vitamina reduce la generación de ROS intracelular y el daño oxidativo a las biomoléculas, al mismo tiempo que aumenta la actividad de proteínas antioxidantes bajo condiciones de estrés oxidativo. La cobalamina es un tetrapirrol coordinado con cobalto, que actúa como cofactor enzimático en reacciones de re-arreglos moleculares. Sin embargo, los mecanismos que median su efecto antioxidante no son conocidos. En este trabajo se investigó el efecto de la cobalamina en la respuesta a estrés oxidativo en *Leptospirillum* CF-1 mediante experimentos transcriptómicos y proteómicos llevados a cabo sobre células pre-tratadas con cobalamina 5 nM y posteriormente expuestas a estrés oxidativo con sulfato férrico 260 mM. El experimento incluyó controles sin cobalamina, y sin cobalamina y sin estrés. Los experimentos transcriptómicos se realizaron utilizando la tecnología Illumina, mientras que los proteómicos se realizaron mediante LC-MS/MS. Los resultados transcriptómicos fueron validados mediante RT-qPCR. El análisis de los datos obtenidos mostró que la cobalamina estimula las vías de respuesta frente al estrés oxidativo que incluyen la síntesis de centros hierro-azufre, plegamiento de proteínas, metabolismo energético, síntesis de exopolisacárido y metabolismo de la metionina. Estos resultados sugieren que la cobalamina ejerce una estimulación general del metabolismo que facilita la adaptación de la cepa CF1 a las condiciones oxidantes. Se discutirá sobre las implicancias en el proceso industrial.

Fondecyt 1120746; Dicyt-USACH

# COMUNICACIONES LIBRES PANELES I

## CLP1-1

### **Evaluación de la expresión de genes implicados en virulencia en diferentes cepas de *Piscirickettsia salmonis***

**Abello-Barriga R<sup>1</sup>**, Lagos F<sup>1</sup>, Hausmann D<sup>1</sup>, Figueroa J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, UACH. (Sponsored by Jaime Figueroa Valverde)

*Piscirickettsia salmonis* es una bacteria Gram negativa, intracelular facultativa, agente etiológico de la Piscirickettsiosis, enfermedad que ocasiona altas mortalidades en especies de salmónidos, amenazando la sostenibilidad de la industria salmonera en Chile. Se ha descrito que *P. salmonis* es capaz de sobrevivir y replicar al interior de macrófagos de salmón del Atlántico (*Salmo salar*), no obstante los mecanismos usados por esta bacteria para sobrevivir, replicar y propagar en ese tipo de células así como en otras líneas celulares, estos son poco conocidos. En este trabajo se llevó a cabo la comparación de la expresión de un set de genes probablemente asociados a patogenicidad en 4 cepas de *P. salmonis*, pertenecientes a 3 de los 4 genogrupos descritos y cada una con grado de patogenicidad diferente según velocidad y magnitud de efecto citopático *in vitro*. Para ello se realizaron cinéticas de infección en monocapas de la línea celular tipo monocito-macrófago, SHK-1 de *S. salar*, y que fueron infectadas con un MOI de 50 bacterias de *P. salmonis*. Se evaluó por RT-qPCR la expresión de los genes *bipA* (factor de virulencia), *clpB* (*heat shock protein*), *dotB* (proteína del complejo de secreción Dot/Icm) y *csrA* (factor de virulencia), genes candidatos según datos bibliográficos en otros patógenos acuáticos y datos previos del laboratorio. La expresión de estos genes fue evaluada a las 0, 6, 24, 48 y 72 horas post infección (hpi). Los resultados preliminares muestran que existe variación en la expresión de transcritos durante la cinética de infección para cada cepa. Las variaciones estarían relacionada al grado de virulencia de cada cepa al interior de las células de la línea celular. Estos resultados ayudan a entender el proceso de infección de *P. salmonis* y sus distintos grados de patogenicidad.

Proyecto FONDECYT 1130069 y FONDAP 15110027

**CLP1-2****La infección neuronal con herpes Simplex virus tipo 1 induce cambios de expresión y distribución subcelular de mediadores de plasticidad sináptica**

**Acuña-Hinrichsen F<sup>1,4</sup>**, Salazar P<sup>1</sup>, Caroca J<sup>1</sup>, Leyton L<sup>1</sup>, Castro G. M<sup>4,2</sup>, Burgos P<sup>3,4</sup>, Otth L. C<sup>4,1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral De Chile.<sup>2</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral De Chile.<sup>3</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral De Chile.<sup>4</sup>Centro Interdisciplinario de Estudios del Sistema Nervioso (CISNe) Universidad Austral De Chile. (Sponsored by Carola Otth Lagunas)

Herpes Simplex Virus Tipo 1 (HSV-1) es un patógeno ubicuo, neurotrópico y la causa más común de encefalitis esporádica aguda en humanos. Este virus se caracteriza por establecer una infección persistente latente en las neuronas de sus hospederos presentando frecuentes cuadros de reactivación, por lo que es considerado un factor de riesgo de disfunción neuronal. HSV-1 infecta áreas del Sistema Nervioso Central (SNC) relacionadas a la consolidación de la memoria y el aprendizaje. Durante la sinapsis, estímulos del entorno son rápidamente traducidos en señales celulares que requieren de la expresión de genes inmediatamente tempranos (*IEGs*), involucrados en procesos de plasticidad sináptica. Uno de los IEG más importantes relacionados al mantenimiento de la homeostasis sináptica, es la proteína asociada al citoesqueleto regulada por actividad: Arc, la cual es rápidamente inducida por la activación de receptores como el receptor tirosina quinasa TrkB. Al respecto, nuestros resultados de ensayos de RT-qPCR, *western blot*, e Inmunofluorescencia indirecta, demuestran que durante cinética de infección neuronal con HSV-1, existe un aumento en los niveles de expresión de Arc (mRNA y proteína), así como cambios en su localización subcelular a las 8 horas post infección (hpi), tiempo en el cual también observamos un clivaje anómalo del receptor TrkB activado (pY705), fenómeno descrito bajo otro estresor celular (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), pero nunca antes con infección viral. Interesantemente, se ha descrito que Arc participa del tráfico vesicular e interactúa con proteínas con actividad proteolítica; por lo que posiblemente, HSV-1 estaría induciendo la expresión de Arc y la activación de tráfico vesicular.

Financiamiento FONDECYT 1150574

**CLP1-3****Aislamiento y caracterización de aislados bacterianos nativos desde aguas contaminadas con Cipermetrina por la industria acuícola en la X región, Chile.**

**Aguila P<sup>1</sup>**, Bermudez R<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Tecnología Médica, Sede Puerto Montt, Universidad Austral de Chile.<sup>2</sup>Escuela de Medicina, Sede Patagonia, Universidad San Sebastián.

Una de las principales actividades económicas en Chile es la Salmonicultura, la cual no ha estado exenta de problemas patológicos y ambientales desde sus inicios. La parasitosis causada por el piojo de mar *Caligus rogercresseyi* ha sido desde 1997 uno de los principales problemas sanitarios que ha debido enfrentar la industria del salmón en Chile, en las regiones X y XI. El piretroide sintético Cipermetrina, es uno de los antiparasitarios más utilizados para los tratamientos tendientes a controlar al piojo de mar. Este pesticida ha sido clasificado como posible carcinógeno humano por la agencia de protección ambiental (EPA). Además, estos compuestos piretroides son persistentes y tóxicos para el ambiente, afectan la biodiversidad de invertebrados acuáticos y también, la salud humana. Se aislaron 29 cepas bacterianas a partir de agua de mar contaminada con Cipermetrina 0,1 % v/v desde el Estuario del Reloncaví en la región de los Lagos, mediante enriquecimiento en medio mínimo M9 con Cipermetrina 0,1% v/v como única fuente carbono y energía. La caracterización se realizó mediante tinción de gram, y pruebas fenotípicas y bioquímicas. Posteriormente, la identificación de los aislados se realizó mediante secuenciación del gen rRNA 16S. Se obtuvieron aislados bacterianos nativos que degradan Cipermetrina, pertenecientes a los géneros de *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Curtobacterium*, *Bacillus*, *Janibacter*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Okibacterium* y *Kocuria*. Se aislaron bacterias nativas degradadoras de Cipermetrina, las cuales sirven como potenciales biocatalizadores para la Biorremediación de ambientes acuáticos contaminados con Cipermetrina por la industria acuícola.

Agradecimientos: Vicerrectoría Universidad Austral, Sede Puerto Montt, Escuela de Tecnología Médica, Universidad Austral, Sede Puerto Montt.

**CLP1-4****Evaluación de la biodegradación de una mezcla compleja de gases de rendering en sistemas de biofiltración**

**Aguirre A<sup>1</sup>**, San Martín R<sup>1</sup>, Cáceres M<sup>1</sup>, Gentina J C<sup>1</sup>, Aroca G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Ingeniería Bioquímica, Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Las emisiones gaseosas provenientes de la industria de rendering contienen mezclas complejas de gases característicos por ser generadores de olores molestos, por tanto su tratamiento es indispensable. La biofiltración de gases es una de las tecnologías biológicas que puede usarse para el tratamiento de este tipo de emisiones gaseosas, principalmente por su bajo costo de instalación y operación y por no generar productos tóxicos. En el presente trabajo se evaluó a un tiempo de residencia (EBRT) de 168 s la biodegradación de una mezcla de gases presentes en emisiones de rendering dentro de un biofiltro de lecho fijo orgánico a escala laboratorio utilizando como inóculo del biofiltro bacterias con capacidad específica para degradar distintos compuestos gaseosos presentes en emisiones de rendering, éstas fueron: *Acidithiobacillus thiooxidans* ATCC 19377, *Thiobacillus thioparus* DSM 505, *Aminobacter aminovorans* DSM 7048, *Rhodococcus erythropolis* DSM 43066, *Methylobacterium organophilum* DSM 760 y *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718. La mezcla gaseosa utilizada contuvo Amoníaco (10 a 40 ppmv), Sulfuro de hidrógeno (10 ppmv) y Metanol (10 a 20 ppmv), ésta fue alimentada al biofiltro de lecho fijo orgánico inoculado con las bacterias mencionadas. Adicionalmente se utilizaron como tratamientos control dos biofiltros de lecho fijo orgánico (un biofiltro de lecho fijo orgánico cuyo soporte orgánico fue irradiado y al que no se le adicionó inóculo, otro biofiltro de lecho fijo orgánico cuyo soporte orgánico no fue irradiado y al que tampoco se le adicionó inóculo y un biofiltro de lecho escurrido inoculado). Tras 118 días de operación del sistema se constató la remoción total de NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S y Metanol en las 4 columnas de biofiltración, siendo en los niveles más bajos (0 a 36 cm de altura) de las columnas donde ocurrió la eliminación total de los tres compuestos. Como conclusión los biofiltros de lecho fijo orgánico y el biofiltro de lecho escurrido utilizados en este trabajo resultaron adecuados para la remoción total del Amoníaco, Metanol y H<sub>2</sub>S presentes en la mezcla gaseosa.

CONICYT(Proyecto FONDECYT 1151201) y Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

**CLP1-5****Comunidades virales marinas antárticas: nuevo componente con potencial efecto sobre las emisiones de DMSP en el océano austral**

**Alarcón-Schumacher T<sup>1</sup>**, Guajardo-Leiva S<sup>1</sup>, Díez B<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup> Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile.

Las comunidades microbianas marinas antárticas durante el verano austral se caracterizan por una alta abundancia de fitoplancton eucariótico y bacterias heterotróficas, que generan emisiones de gases como DMS y DMSP, afectando la nucleación de nubes y albedo. En estas comunidades, los virus podrían estar influenciando su composición e impactando en los ciclos biogeoquímicos y por tanto en las emisiones de DMSP a la atmósfera. Sin embargo, a pesar de la importancia que los virus podrían tener en este ecosistema marino, la diversidad de las comunidades virales en antártica permanece en gran medida aún inexplorada. En este trabajo se determinó la composición morfológica y genética de la comunidad viral asociada a comunidades microbianas marinas de la zona fótica de aguas antárticas costeras en Bahía Chile (Península Antártica). Para ello se estudiaron muestras colectadas en el verano del 2014 durante un periodo de baja y alta clorofila respectivamente, a través de microscopía (T.E.M.) y de metodologías de secuenciación masiva (metagenómica). Adicionalmente, se estudió la relación virus-hospedero mediante búsqueda de secuencias espaciadoras en locus CRISPR-Cas, que representan genes de proteínas virales insertas en los contigs bacterianos recuperados. En la comunidad microbiana estudiada, los eucariontes unicelulares de los grupos SAR y Haptofita (particularmente *Phaeocystis antarctica*) y las proteobacterias, constituyen los grupos dominantes. A nivel de la comunidad viral, en la muestra colectada durante periodo de baja clorofila se encontró dominancia de virus de la familia Myoviridae (83%) lo que fue corroborado por morfología taxonómica mediante TEM. Mientras, en el periodo de alta clorofila dominó la familia Phycodnaviridae (90%), correlacionándose con un aumento de los eucariontes fotosintéticos *Phaeocystis antarctica*. El ensamble de las secuencias permitió la recuperación de varios genomas virales, destacándose el genoma parcial de un nuevo Phycodnavirus cuyo posible hospedero es *Phaeocystis antarctica*. A nivel de secuencias CRISPR se encontraron espaciadores cuyos blancos son proteínas virales que podrían corresponder a los principales bacteriofagos presentes en el sistema que infectan proteobacterias. Estos resultados muestran la composición de la comunidad viral asociada a la fracción unicelular eucariota y bacteriana en aguas antárticas, revelando un nuevo Phycodnavirus que infectaría a *Phaeocystis antarctica*, pudiendo jugar un rol importante en la emisiones de DMSP por estos eucariontes en el océano austral.

Proyectos INACH15-10; DPI20140044 Conicyt

**CLP1-6****Rol de la estructura del oligosacárido central en el comportamiento termotrópico de la capa externa de lipopolisacáridos**

**Alarcón T. M**<sup>1</sup>, Aguayo V. D<sup>2,3</sup>, Navarro P. B<sup>2,3</sup>, Inostroza A<sup>2,3</sup>, Correa M. S<sup>2,3</sup>, <sup>1</sup>Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB), República 239, Santiago, Chile, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB), República 239, Santiago, Chile, Facultad de Biología, Universidad Andrés Bello.<sup>3</sup>Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso, Valparaíso, Chile. Universidad de Valparaíso.

Los lipopolisacáridos (LPS) generan una barrera física contra factores externos y, por tanto, son indispensables para la adaptación y viabilidad de bacterias Gram negativo. Bajo condiciones de estrés, diferentes cepas bacteria modulan las propiedades de la membrana externa incorporando carbohidratos o grupos químicos en su LPS. Recientemente, se describió un aumento en la sensibilidad a Vancomicina en condiciones de baja temperatura, cambio relacionado con el largo y composición del LPS a nivel del oligosacárido central y no del Lípido A. Como la permeabilidad de la membrana externa está directamente relacionada con la estructura supramolecular de la capa de LPS, nos preguntamos si cambios en el largo del LPS a nivel del oligosacárido central altera las interacciones LPS-LPS y, subsecuentemente, modifica su estructura supramolecular. Para contestar usamos Calorimetría diferencial de barrido (DSC) para caracterizar el comportamiento termotrópico de membranas de LPS. La determinación del efecto de la composición del LPS en la temperatura de transición desde la fase gel a fase cristalina líquida de vesículas artificiales de LPS extraídos desde las cepas E. coli BW25113 su mutante  $\Delta WaaG$ , mostró que no existe un cambio de fase, sin embargo, no se descartan cambios en la estructura que adoptan cada LPS en la membrana.

Proyecto Fondecyt Inicio n°11130576, Universidad Andres Bello, Facultad de Biología, Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB). Proyecto Fondecyt n° 11130576 y Millenium initiative 09-022-F.



**CLP1-7****La temperatura modula la microdiversidad de cianobacterias Stigonematales en el sistema termal de Porcelana, Patagonia Chilena**

**Alcorta J**<sup>1</sup>, Espinoza S<sup>1</sup>, Alcamán M E<sup>1</sup>, Roselló-Mora R<sup>2</sup>, Díez B<sup>1,3</sup>, <sup>1</sup>Departamento Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA) CSIC. <sup>3</sup>Centro del Clima y Resiliencia (CR)<sup>2</sup>, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile .

**Resumen**

Los tapetes microbianos termales, son comunidades de microorganismos termófilos y termotolerantes que conviven en gradientes ambientales, contribuyendo al sistema con sus diferentes metabolismos. En el sistema termal de Porcelana (Patagonia Norte, Chile) las cianobacterias filamentosas de la subsección V (Orden Stigonematales) son dominantes en los milímetros superiores del tapete entre los 46 y 57 °C, y son responsables de la fijación de carbono y nitrógeno *de novo* que entra al sistema.

A partir de estos tapetes en Porcelana, hemos obtenido 82 aislados de la subsección V, que han sido caracterizados morfológica y filogenéticamente a través de los marcadores 16S rRNA y *nifH* (enzima nitrogenasa) por la técnica de fingerprinting DGGE, y mediante proteómica por MALDI-TOF/TOF.

Los aislados obtenidos fueron identificados mediante el análisis de 16S rRNA como pertenecientes a la misma población, sin embargo mediante análisis de MALDI-TOF se separaron en tres clusters proteómicos diferentes que presentan dos alelos distintos para el gen *nifH*. Dos de estos clusters están asociados a mayores temperaturas (54 y 61 °C) desde donde fueron recuperados de la terma, presentando uno de los dos alelos para el gen *nifH*. Por otro lado, el tercer cluster está compuesto por aislados obtenidos a menores temperaturas (51 y 46°C) en la terma, presentando un segundo alelo del gen *nifH*. Los resultados de MALDI-TOF demostraron que hay variaciones a nivel proteómico, por ejemplo en proteínas relacionadas con el proceso de fotosíntesis, sugiriendo que este metabolismo y otros (relacionados con proteínas hipotéticas) podrían verse afectados por la temperatura, y por tanto generar diferentes ecotipos dentro del gradiente termal.

Los resultados obtenidos demuestran que el uso combinado de técnicas de identificación filogenética basada en secuencia junto a la comparación de perfiles proteicos se complementan a la hora de identificar microdiversidad en sistemas naturales que presentan gradientes ambientales como los tapetes microbianos termales.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT n° 1110696, 11105171; Center for Climate Change and Resilience Research (CR)<sup>2</sup>, Chile.

**CLP1-8****Variaciones sub-representadas como potenciales marcadores de virulencia.**

**Almonacid L**<sup>1,6</sup>, Barrera A<sup>1,2</sup>, Halpin R<sup>3</sup>, Wentworth D<sup>3</sup>, Tapia K<sup>1</sup>, Ferres M<sup>4</sup>, García-Sastre A<sup>3,5</sup>, Melo F<sup>6</sup>, Medina R<sup>1,2,5</sup>, <sup>1</sup>Laboratory of Molecular Virology, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy Santiago, Chile. <sup>3</sup>Virology J. Craig Venter Institute, Maryland, USA. <sup>4</sup>Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>5</sup>Department of Microbiology Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY 10029, USA. <sup>6</sup>Bioinformatics Laboratory Pontificia Universidad Católica de Chile.

The influenza A virus (IAV) is a respiratory pathogens that circulates in humans yearly. Despite preventive measures and treatments IAV is still a disease that produces high morbidity. IAV have a high mutation rate which give the virus a mechanism for fast genomic evolution. Residue variations have been characterized as virulence markers; therefore we analyze the genomic variations of influenza genes of infected patients sampled in 2011 and 2013 in Chile. Nasopharyngeal swabs of 23 IAV RT-PCR-confirmed patients with A(H1N1)pdm09 IAV were obtained and their viral genomes sequenced. Samples were taken daily during 7 days after symptoms onset. The severe infection criteria were established according to the hospitalization parameters and/or derivation to Critical Care Unit after symptoms onset. All patients except for one were classified as severe. Forty-four haemagglutinin and forty-five neuraminidase sequences were obtained and phylogenetics trees were built. Sequences from each seasons where mainly grouped into two cluster with the exception of three divergent sequences belonging to patients, p1d1/2011, p15d1/2011 and 31673/2013, where two of them died. Seriated samples tend to group together, except for patients p3/2011, p21/2011, p13/2013, p20/2013 and p25/2013 in the haemagglutinin and p3/2011 and p12/2011 in neuraminidase segment. We examined amino acids in our sequences that were represented at low frequency respect NCBI Flu database. Patient p1/2011 had a A90T variation in Cb antigenic site and p3/2011 had two novel mutations, E483K in HA and I223M in NA. The position 223 in NA is within the binding pocket, suggesting this could be related to oseltamivir resistance, particularly because this mutation reverted to wild type after treatments was finalized. These variations could contribute to severity by immune escape or antiviral-resistance. Thus, additional analyses of all the viral proteins are needed to elucidate residue changes that might be potential virulence markers during human infection.

Becas CONICYT de Doctorado Nacional; FONDECYT 1121172 and 1161791; Proyecto Anillo PIA ACT 1408; Program Iniciativa Científica Milenio P09/016-F; and CRIP an NIAID-NIH Funded CEIRS Center HHSN266200700010C.

**CLP1-9****Identificación del gen *DAP1* como un posible regulador de P450s en *X. dendrorhous***

**González A M<sup>1</sup>**, Sepúlveda D<sup>1</sup>, Baeza M<sup>1</sup>, Cifuentes V<sup>1</sup>, Alcaíno J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Sponsored by Jennifer Cecilia Alcaíno Gorman)

Las enzimas citocromo P450 (P450s) participan en importantes funciones en las células como la biosíntesis de componentes de la membrana celular, detoxificación de xenobióticos, entre otros. En hongos como *S. pombe* se ha caracterizado la proteína Dap1 (*Damage activated protein 1*) como un regulador positivo de P450s y demostrado su participación en la síntesis de ergosterol. En la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous* se han caracterizado tres P450s: Cyp51 y Cyp61, involucradas en la biosíntesis de ergosterol y CrtS, involucrada en la biosíntesis de astaxantina, carotenoide de interés comercial.

Mediante análisis del transcriptoma y genoma de esta levadura, se identificó un gen homólogo a *DAP1* de 808 pb que codificaría a una proteína de 169 aminoácidos con los motivos característicos de Dap1. Mediante recombinación homóloga se construyó un mutante de delección desde la cepa silvestre CBS 6938 (*CBS $\Delta$ dap1*), donde se reemplazó el gen *DAP1* por un módulo que confiere resistencia al antibiótico higromicina B.

La cepa *CBS $\Delta$ dap1* muestra un cambio en la pigmentación siendo ésta más amarilla que la cepa silvestre, sugiriendo la alteración de la biosíntesis de carotenoides. En presencia de drogas azólicas (clotrimazol, ketoconazol e itraconazol) que inhiben la biosíntesis de ergosterol principalmente en el paso catalizado por la enzima Cyp51, el crecimiento de este mutante se ve disminuido en comparación con su cepa parental. De esta manera, se concluye que el gen *DAP1* identificado en *X. dendrorhous* codificaría a una proteína funcional involucrada en la biosíntesis de esteroides y carotenoides en este microorganismo.

FONDECYT 1160202

**CLP1-10**

***Scedosporium dehoogii*, un nuevo reporte de Chile: filogenia y perfiles de sensibilidad a antifúngicos clásicos y a nuevas moléculas con potencial antifúngico** (New record of *Scedosporium dehoogii* from Chile: Phylogeny and susceptibility profiles to classic and novel putative antifungal agents)

**Álvarez E<sup>1</sup>**, Sanhueza C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa Microbiología y Micología, F. de Medicina, Universidad de Chile.

Antecedentes: Las especies de *Scedosporium* se consideran agentes emergentes responsables de enfermedad en pacientes inmunodeficientes. En Chile, únicamente se había publicado con anterioridad la existencia de las especies *Scedosporium apiospermum*, *Scedosporium boydii* y *Lomentospora prolificans*. Objetivos: Este estudio tuvo como objetivo clasificar genéticamente cepas de *Scedosporium dehoogii* obtenidos de muestras del suelo de Chile. Asimismo, se evaluó el perfil de sensibilidad de las cepas a los antifúngicos clásicos y a nuevas moléculas con potencial antifúngico. Métodos: En el año 2014, durante un estudio de evaluación de la biodiversidad fúngica en Chile, se tomaron diversas muestras del suelo de zonas urbanas del país. Se llevaron a cabo análisis morfológicos y filogenéticos de las secuencias pertenecientes a la región del espaciador transcrito interno (ITS), de la tubulina (TUB) y de la calmodulina (CAL). Además, se determinaron los perfiles de sensibilidad a los antifúngicos clásicos y a nuevas moléculas con potencial antifúngico. Resultados: Se aislaron cuatro cepas de *Scedosporium dehoogii* de las muestras del suelo. Las pruebas morfológicas y moleculares confirmaron la especie (el presente estudio representa un nuevo reporte para Chile). Las pruebas de sensibilidad antifúngica mostraron baja actividad de los terpenos (-pineno y geraniol). El voriconazol (VRC), el posaconazol (PSC) y las hidroxiquinolinas (CLQ1, HQ21) presentaron la mejor actividad antifúngica.

**CLP1-11****La hidroxilación del lípido A de *Salmonella* Enteritidis favorece la supervivencia intracelular y reduce la respuesta inflamatoria en macrófagos murinos**

**Amaya F<sup>1</sup>**, Fernández P<sup>1</sup>, Velásquez F<sup>1</sup>, Santiviago C<sup>1</sup>, Álvarez S<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El lípido A es el principal componente bioactivo del lipopolisacárido, actuando como un potente inductor de la respuesta inmune. Muchas bacterias patógenas modifican la estructura del lípido A para reducir su inmunogenicidad. La mayoría de estas modificaciones tienen un efecto y regulación conocida; sin embargo, la hidroxilación del lípido A no ha sido completamente caracterizada. En *Salmonella* Typhimurium, esta hidroxilación es catalizada por la enzima LpxO y la delección del gen que la codifica causa una importante atenuación *in vitro* e *in vivo*. Además, en esta bacteria la actividad catalítica de LpxO es inhibida por la proteína YgiW, en cuya ausencia aumenta la hidroxilación del lípido A. Adicionalmente, en *Klebsiella pneumoniae* la hidroxilación del lípido A disminuye su inmunogenicidad en macrófagos murinos, fenómeno que no ha sido caracterizado en *Salmonella*. En este trabajo, se estudió la influencia de la hidroxilación del lípido A sobre la interacción de *Salmonella* Enteritidis con macrófagos murinos. Para esto, se generaron mutantes  $\Delta lpxO$  y  $\Delta ygiW$  de *S. Enteritidis* NCTC13349 y se determinó el nivel de hidroxilación del lípido A de cada cepa mediante espectrometría de masas. Luego, se realizaron ensayos de infección usando macrófagos murinos RAW264.7 para evaluar la supervivencia intracelular de cada cepa y la secreción de IL-6 en respuesta a la infección. La mutante  $\Delta lpxO$  produjo un lípido A carente de hidroxilación y estimuló una mayor liberación de IL-6 comparado con la cepa silvestre. Por otra parte, la mutante  $\Delta ygiW$  produjo un lípido A con un grado de hidroxilación similar a la cepa silvestre y no estimuló la secreción de IL-6 por sobre los niveles obtenidos al infectar los macrófagos con la cepa silvestre. Por último, la delección de *lpxO* aumentó la invasión de *S. Enteritidis* en macrófagos RAW264.7 y disminuyó la supervivencia intracelular del patógeno a tiempos posteriores. En conjunto, nuestros resultados sugieren que la hidroxilación del lípido A disminuye la respuesta inflamatoria inducida por *S. Enteritidis*, favoreciendo la supervivencia intracelular del patógeno en macrófagos murinos.

Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1130225 y 1140754, y las becas CONICYT 21140692 y 22151395.

**CLP1-12****Los sRNAs de *Acidithiobacillus ferrooxidans* regulan sus mRNA blancos mediante la chaperona Hfq.**

**González D<sup>1</sup>**, Alamos P<sup>1</sup>, Orellana O<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Biología Molecular, Medicina, Universidad de Chile.

Los RNA pequeños no codificantes (ncRNA o sRNA) son moléculas de entre 50 a 500 nucleótidos altamente estructurados que regulan principalmente la traducción del mensaje genético. Mediante análisis computacionales y funcionales se han identificado numerosos sRNA en *Escherichia coli*, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y en otros organismos. Entre los sRNAs que regulan la traducción de mRNAs se encuentran los codificados en regiones intergénicas (acción en *trans*). Estos interactúan por complementariedad parcial de bases con su mRNA blanco y requieren de proteínas chaperonas, como la proteína Hfq, para ejercer su función. Hfq es un homohexamero con forma de anillo que tiene la capacidad de unir sRNAs y mRNAs permitiéndoles ejercer su función reguladora. En *Acidithiobacillus ferrooxidans*, una bacteria acidófila que participa en la biominería, se detectó la presencia de *hfq* y se expresó heterológamente. La Hfq purificada presentó la forma hexamérica, lo que sugiere su participación en la regulación de sRNAs. En este microorganismo se identificaron 30 posibles sRNAs codificados en regiones intergénicas y se predijeron sus blancos teóricos. Dentro de ellos se estudió la función de dos sRNAs que respondieron a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, el N° 1314 y N° 1594 mediante sistemas heterólogos de expresión. En este trabajo se evaluó si estos sRNAs requieren de la proteína Hfq para ejercer su función en los mRNA blancos. Para ello se clonaron y expresaron los genes de los sRNA y los mRNA en *E. coli* y se midió su efecto en presencia o ausencia de la chaperona Hfq. Los niveles de RNA de los blancos se midieron mediante RT-qPCR. Se observó que la ausencia de Hfq generó una alteración en los niveles de mRNA en presencia de sus sRNAs, lo que sugiere que estos sRNAs requieren de la acción de Hfq para ejercer su función.

Financiado por Proyecto Fondecyt 1150843

**CLP1-13****Expresión génica del virus papiloma humano (VPH) en lesiones papilomatosas de la cavidad oral en pacientes VIH/SIDA**

**Ampuero S<sup>1</sup>**, Ramírez A<sup>2</sup>, Silva D<sup>1</sup>, Donoso F<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Programa Virología, ICBM, Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Laboratorio de Biología Molecular Hospital San Juan de Dios.<sup>3</sup>Departamento de Cirugía Maxilofacial, Odontología, Universidad de Chile.

La infección por VPH con genotipos de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) se asocia al desarrollo de cáncer oral. Pacientes VIH(+) presentan mayor susceptibilidad a infecciones orales por VPH-AR. El RNAm de E6/7 viral es un biomarcador usado para evaluar replicación activa y actividad oncogénica en tejidos. Nuestro objetivo fue detectar RNAm virales E2 y E6/7 en lesiones papilomatosas de pacientes VIH(+) VPH(+) en 4 VPH-AR y en VPH6 y VPH11, genotipos de bajo riesgo (BR). De 7 pacientes adultos VIH/SIDA (Servicio de Cirugía Máxilofacial, Hospital San Juan de Dios) se obtuvieron muestras de lesiones papilomatosas con cepillo citológico para la genotipificación de VPH y biopsia excisional de la lesión incluida en parafina para la detección de RNAm. VPH fue detectado y genotipificado mediante macroarray (LCD-ArrayHPVType 3.5). Los RNAm E2 y E6/7 de VPH6, 11, 16, 18, 52 y 56 y B2M celular fueron detectados mediante transcripción inversa-PCR en tiempo real. Un 71,4% presentó infección con múltiples genotipos. El genotipo más frecuente fue VPH52 (42,8%). VPH56 y VPH16 se detectaron en 2 pacientes (28%) respectivamente. Los genotipos de BR VPH6 y VPH11 se presentaron en baja proporción (14,2%). Detectamos los RNAm de E2 y de E6/7 en las muestras VPH6(+) y VPH11(+). Los valores de *threshold cycle* (Ct) bajos, sugieren una alta expresión. En los genotipos de AR, solo detectamos RNAm de E6/7 en la muestra VPH18(+), con un alto valor de Ct. En las muestras positivas de VPH16, 52 y 56 no se detectaron los RNAm virales. La detección de RNAm de E2 y E6/7 de VPH6 y VPH11 indica un estado replicativo activo en las lesiones papilomatosas. Posiblemente el tipo de muestra interfirió en la detección de los RNAm de genotipo de AR. Mayor número de pacientes y seguimiento es requerido para establecer asociaciones oncogénicas con VPH-AR en este tipo de lesiones.



**CLP1-14****Aplicación del sistema de genética reversa para la generación de un virus de la anemia infecciosa del salmón genotipo HPRO cultivable**

**Ananias C<sup>1</sup>**, Cortez-San Martín M<sup>1</sup>, Toro-Ascuy D<sup>1</sup>, Vásquez-Martínez Y<sup>1</sup>, Toledo-Alonso J<sup>2</sup>, Montoya-Kunsting M<sup>3</sup>,

<sup>1</sup>Laboratorio de Virología y Control de Patógenos, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. <sup>3</sup>Laboratorio de Bioquímica Celular, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (Sponsored by Renato Chávez)

El virus ISA fue el causante de la mayor crisis de la salmicultura en Chile. La proteína Hemaglutinina-Esterasa de ISAV, codificada por su segmento 6, ha sido descrita como un importante factor de virulencia debido a la presencia de una región altamente variable, denominada HPR (*High Polymorphic Region*), la cual siempre presenta patrones de deleciones nucleotídicas en los aislados virales causantes de brotes infecciosos, denominándose ISAV-HPR $\Delta$ . Sin embargo, la prevalencia de aislados avirulentos sin deleciones (ISAV-HPRO) propuesto como precursor de variantes ISAV-HPR $\Delta$ , ha llevado que HPRO se convierta en un factor de riesgo para la industria acuícola. Debido a la imposibilidad de propagar ISAV-HPRO *in vitro*, éste no se ha caracterizado desconociéndose su rol en la virulencia de ISAV. El desarrollo de un Sistema de Genética Reversa para ISAV permite generar y caracterizar un virus recombinante ISAVr-HPRO capaz de replicarse en cultivo celular.

El estudio se basó principalmente en generar un plásmido de genética reversa pSS-URG/UTR-S6/S6-HPRO que, en conjunto con la transfección de células con el sistema de genética reversa, permita la generación de un virus ISAVr-HPRO capaz de replicar en cultivo celular y, el cual fue posteriormente detectado mediante técnicas de biología molecular. Los resultados obtenidos indican la transcripción de un RNA viral correspondiente al S6-HPRO generado a partir del plásmido pSS-URG/UTR-S6/S6-HPRO, mediante un ensayo de minigenoma. Posteriormente, la aplicación del sistema de genética reversa permitió observar: la replicación un virus ISA recombinante HPRO capaz de replicar en cultivo celular al detectar el RNA viral correspondiente al S6 en pasajes de infección, un aumento del título viral a través de los sucesivos pasajes y finalmente la detección de proteínas virales en el interior de células infectadas. Estos resultados nos permiten concluir que es posible detectar la replicación de un virus recombinante ISAVr-HPRO generado mediante un sistema de genética reversa.

Financiado por proyecto por proyecto FIA PYT-2012-0022, proyecto VIU-FONDEF N° 140025 y FONDECYT REGULAR 1161006.

**CLP1-15****Mecanismo de inhibición de la polimerización de FtsZ *in vitro* por diaril cetonas y su efecto *in vivo* sobre *E. coli* y *B. subtilis*.**

**Araya G<sup>1</sup>**, Lagos R<sup>1</sup>, Monasterio O<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Ciencias, Universidad de Chile.

El aumento de cepas bacterianas patógenas y/o resistentes a antibióticos hace necesario el desarrollo de antimicrobianos con mecanismos y blancos celulares nuevos. Un blanco que ha sido relativamente poco explorado y resulta prometedor es la maquinaria de la división celular o *divisoma*, el cual es indispensable para la supervivencia y propagación de los organismos vivos. Un componente de este aparato y excelente candidato como blanco es FtsZ, la cual es una GTPasa altamente conservada que establece la localización del sitio de división y ejerce como andamio para el ensamblaje del divisoma. FtsZ actúa polimerizando en la cara interna de la membrana citoplasmática formando el anillo Z, cuya formación se encuentra estrictamente regulada espacio y temporalmente dada su gran importancia. De esta manera, en este trabajo se informa el efecto de dos moléculas inhibitoras de la polimerización *in vitro* de FtsZ de *E. coli* (EcFtsZ) y de *B. subtilis* (BsFtsZ), NPY y B2T, las cuales corresponden a diaril cetonas. La inhibición se determinó mediante dispersión de luz a 350 nm. El mecanismo de inhibición se dilucidó a través de la visualización de los polímeros por microscopía electrónica. Se determinó también el efecto *in vivo* de las moléculas mediante curvas de crecimiento de *E. coli* y *B. subtilis* y se visualizó la morfología celular por microscopía de campo claro y de fluorescencia (tinción de ácidos nucleicos). Los resultados indican que ambos compuestos se unen al polímero de FtsZ y no al monómero. NPY es mejor inhibidor que B2T, tanto de la polimerización de ambas proteínas y como del crecimiento de *B. subtilis*, induciendo *in vitro* otro tipo de polimerización, el cual en BsFtsZ forma polímeros con una estructura de anillos apilados. *In vivo* los compuestos afectan en distinta medida sólo a *B. subtilis* generando en ésta la formación de esporas y minicélulas.

FONDECYT N° 1150030

**CLP1-16****Evaluación de la *Escherichia coli* como indicador del impacto ambiental del río San José sobre el hábitat de *Chelonia mydas* en bahía Chinchorro, Arica, Chile.**

**Astudillo M<sup>1</sup>**, Hernandez T<sup>1</sup>, Salinas P<sup>1</sup>, Sielfeld W<sup>1</sup>, Santander E<sup>1</sup>, Jaque J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias del Mar, Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat.

La presencia de *Escherichia coli* en aguas dulces o marinas es un claro indicador de contaminación fecal proveniente de residuos de animales o humanos. El sector de playa Chinchorro de Arica, hábitat recurrentes de tortugas marinas, es susceptible a la contaminación fecal urbana de la ciudad. Este lugar se caracteriza por recibir aguas del río San José cuyo caudal atraviesa el valle de Azapa y la ciudad de Arica desembocando en esta playa durante el invierno altiplánico. Así, el objetivo de este trabajo es evaluar si la presencia de *E. coli* se relaciona con la descarga del río San José.

El área de muestreo correspondió al sector de La Puntilla en playa Chinchorro, donde se realizaron muestreos entre noviembre 2011 a mayo 2016, con tres estaciones entre 50 - 100 m de la costa. En cada estación se tomaron muestras de agua de mar para el análisis de coliformes, los que fueron determinados mediante el número más probable empleando el medio A1 de acuerdo a la metodología descrita en NCh 2313/23.Of95. Los coliformes, mostraron fuertes fluctuaciones en su abundancia identificándose tres periodos (P1; P2; P3). P1: con altas abundancias de *E. coli* (> 100 NMP/100ml) antecedido por una fuerte descarga del río San José, P2: donde no se detectaron *E. coli* (< 2 NMP/100 mL) y tampoco descargas del río y P3: nuevamente con importantes abundancias (entre 50 y 1000 NMP/100 mL) pero sin la descarga del río, relacionadas posiblemente a la presencia de un emisario submarino, situado al norte del área de muestreo. Así, la presencia de *E. coli* aparentemente posee más de una fuente aparte del río San José. Conociendo el impacto que tiene la contaminación fecal sobre la salud humana, es necesario estudiar el efecto de podría tener esta contaminación fecal sobre la salud de las tortugas.

Financiamiento: Programa de Conservación de Tortugas Marinas en playa Chinchorro de Arica, Gobierno Regional de Arica y Parinacota.

**CLP1-17****Estructura modular de los sRNA que reconocen múltiples mRNA en *Escherichia coli***

Ávalos F<sup>2</sup>, Maldonado J P<sup>1</sup>, Tello M<sup>2</sup>, Orellana O<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular Bacteriana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Los sRNA son un tipo de RNA no codificante que participa en la regulación de la traducción en bacterias. El mecanismo por el cual regulan la traducción involucra la interacción mediante complementariedad de bases con los mRNA blanco, generalmente bloqueando o facilitando la unión del ribosoma a la región de inicio de traducción. En *Escherichia coli* existen 108 sRNAs, de los cuales 16 (OmrA, Spot42, RyhB, OmrB, GcvB, OxyS, MicA, RybB, FnrS, DsrA, SgrS, MicC, MicF, RprA, CyaR, RygD) interaccionan con un número de mRNAs que varía entre 4 y 50. Actualmente se desconocen las bases moleculares de la interacción de un sRNA con múltiples mRNAs. Se propone que estos sRNAs presentan una estructura modular que les permite interaccionar con regiones pequeñas conservadas en los mRNA. En este trabajo se identificaron mediante estrategias bioinformáticas las regiones de interacción sRNA-mRNA. Los módulos se definieron como zonas del sRNA con alta densidad de interacción sRNA-mRNA. La especificidad de cada módulo se visualizó mediante el programa Cytoscape a través de la construcción de un mapa de redes de interacción de cada módulo con sus blancos. Mediante estos estudios se determinó que los sRNA que interaccionan con múltiples mRNA se organizan en módulos, cada uno de los cuales reconoce un conjunto específico de mRNAs. Como ejemplos, sRNA-OmrA, que se expresa principalmente en fase estacionaria e interacciona con 50 mRNAs, posee un módulo de 20 nucleótidos que participa en el 70% de las interacciones. Por otra parte sRNA-Spot42, que participa en el metabolismo de carbohidratos, tiene cuatro módulos, uno de los cuales interactúa con el 60% de los mRNA blanco. En Spot42, este módulo interactúa principalmente en la región codificante, mientras que los otros módulos lo hacen con la región 5'UTR. Resultados similares fueron obtenidos en el resto de los sRNA que interactúan con múltiples mRNA. Nuestros resultados sugieren que en *Escherichia coli* la interacción de un sRNA con múltiples mRNA blancos ocurre principalmente a través de zonas discretas en el sRNA las cuales interactúan con regiones en el mRNA blanco conservadas tanto en posición como en secuencia

Proyecto Fondecyt 1150834 a OO

**CLP1-18****Expresión heteróloga y purificación de la proteína SREBP de la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*.**

**Barahona S<sup>1</sup>**, Gutiérrez M S<sup>1</sup>, Baeza M<sup>1</sup>, Cifuentes V<sup>1</sup>, Alcaíno J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Ecológicas, Ciencias, Universidad de Chile.

*Xanthophyllomyces dendrorhous* es una levadura basidiomicete capaz de sintetizar carotenoides, principalmente astaxantina, lo que la hace de gran interés comercial. Si bien se conocen la mayoría de las enzimas que participan en la biosíntesis de carotenoides, estudios recientes proponen que el ergosterol, que es el principal esteroles en levaduras, participa en la regulación de la expresión de los genes de la carotenogénesis. Se ha descrito en otros organismos que el mecanismo por el cual el ergosterol regula la transcripción génica es mediante la vía SREBP (**S**terol **R**egulatory **E**lement **B**inding **P**rotein). En esta vía, la proteína SREBP denominada como Sre1 en hongos y levaduras corresponde a un activador transcripcional que es activado cuando los niveles de esteroides en la célula decaen, identificándose también un gen homólogo al gen *SRE1* en *X. dendrorhous*. Con el objetivo de purificar el dominio activador (Sre1N) de la transcripción de la proteína codificada en *X. dendrorhous*, para producir anticuerpos contra él y así monitorear el comportamiento de este regulador en distintos mutantes de la vía SREBP, la fracción del ORF que codificaría a Sre1N se expresó en *E. coli*. Luego de determinar la identidad del péptido expresado mediante MALDI MS/MS, se confirmó que efectivamente la cepa de *E. coli* recombinante produce la proteína esperada y se procedió a estandarizar su sobreexpresión y purificación generando la proteína de fusión Sre1 con residuos 6-HIS. En primera instancia, se procedió a su purificación utilizando la resina NI-NTA y luego se utilizó una columna de intercambio iónico. De esta manera, se avanzó en la purificación de dicha proteína.

FONDECYT 1160202

**CLP1-19****Continuas introducciones de influenza aviar en Chile sugiere a las gaviotas como vector.**

**Barriga G**<sup>1</sup>, Dusan B<sup>6</sup>, Neira V<sup>2</sup>, Brito B<sup>2</sup>, Tapia K A<sup>1</sup>, Sallaberry N<sup>3</sup>, Espoz C<sup>4</sup>, Sallaberry M<sup>5</sup>, Torres F<sup>6</sup>, Medina R A<sup>1,7,8</sup>,

<sup>1</sup>Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Facultad de Veterinaria Universidad de Chile. <sup>3</sup>Facultad de Veterinaria Universidad Andrés Bello. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Universidad Santo Tomás. <sup>5</sup>Facultad de Ciencias Universidad de Chile. <sup>6</sup>Instituto de Biología Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <sup>7</sup>Department of Microbiology Icahn School of Medicine at Mount Sinai. <sup>8</sup>Enfermedades Infecciosas Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy. (Sponsored by Rafael Andres Medina Silva)

Influenza viruses (AIV) can be associated with zoonotic events that can potentially generate epidemics and occasionally pandemics. The main reservoirs of AIV in nature are wild birds; many of them are migratory birds that can travel long distances having the potential to introduce AIV into new geographic locations. During the 2014-2016 we performed a systematic surveillance effort and collected 1636 feces and oral/cloacae swabs samples from shorebirds from 5 different locations throughout Chile. Species sampled included migratory shorebirds such as Franklin's gull (*Leucophaeus pipixcan*), Black Skimmer (*Rynchops niger*), American Oystercatcher (*Haematopus palliatus*), Sanderling (*Calidris alba*), Whimbrel (*Numenius phaeopus hudsonicus*) and a Chilean resident shorebird Grey Gull (*Leucophaeus modestus*). In autumn, we also collected oral/cloacae swabs and serum samples from two resident wild-ducks, the Speckled Teal (*Anas flavirostris*) and the Yellow-billed Pintail (*Anas georgica*). Using a Matrix qRT-PCR assay, we found 7.5-13.1% of the shorebird species sampled were positive for AIV. The samples obtained from wild ducks were negative by qRT-PCR, however; 56% (44 out 78) of the serum samples were positive by an Nucleoprotein ELISA. We used a multi-segment RT-PCR to amplify the full genome of four viruses identified from Franklin's gulls in 2014 and a Grey gull in 2016. We generated cDNA libraries and used the Illumina platform to obtain their complete genome sequences, which identified them as H13N2 subtype viruses. Phylogenetic analyses showed that HA segments grouped within a cluster comprised mainly by H13N2 gull viruses from North America. The internal genes show differential clustering with other North American strains, suggesting extensive reassortment of these genes. These analyses strongly suggest the idea of continuous introductions of H13N2 viruses with diverse gene constellations from North to South America through the Pacific flyway. These results provide important information about transmission and persistence of influenza viruses in wild birds in Chile.

This study was partly funded by the Center for Research in Influenza Pathogenesis (CRIP), FONDECYT Postdoctoral N°3150564 and by the project CONICYT-PIA Anillo1408



**CLP1-20****Caracterización de bacterias ácido lácticas con capacidad de degradar aminas biógenas en vinos tintos chilenos Cabernet Sauvignon**

**Benavides H. H<sup>1</sup>**, Aranda B. M<sup>1</sup>, Henríquez A. K<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

La elaboración de vino tinto tiene dos procesos fermentativos: fermentación alcohólica y maloláctica (FML). Esta última es llevada a cabo por la acción de bacterias ácido lácticas (BAL), que transforman el ácido málico del mosto en ácido láctico, reduciendo la acidez y otorgando las características organolépticas propias del vino. Sin embargo, también se pueden producir compuestos indeseables como las aminas biógenas (AB). Estas sustancias son bases orgánicas nitrogenadas sintetizadas mediante la descarboxilación microbiana de aminoácidos libres, que al ser ingeridas en altas concentraciones produce un riesgo para la salud, e influyen negativamente en la calidad del vino. Estudios realizados indican que los vinos tintos chilenos han reportado concentraciones tres veces superiores a los vinos extranjeros, haciendo necesario buscar estrategias para reducir estas sustancias. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue aislar, caracterizar e identificar BAL autóctonas de vinos tintos chilenos capaces de degradar AB. Para ello se aislaron cepas de BAL desde vino tinto Cabernet Sauvignon durante la FML espontánea, con medios de cultivo específicos para BAL (MRS y MLO). Los aislados fueron caracterizados mediante observación macroscópica, tinción Gram y prueba de catalasa. Su diferenciación genotípica se realizará mediante PCR-RFLP (primers: específicos para BAL; enzimas de restricción: *Aci* y *Mse*I) y la identificación del gen de la enzima descarboxilasa mediante PCR-RT (primers: histidina descarboxilasa *hdc*, ornitina descarboxilasa *odc* y tiramina descarboxilasa *tdc*). La capacidad de degradar AB será estudiada mediante técnicas analíticas (HPTLC y UHPLC con detección UV). Finalmente, se aislaron 46 cepas lácticas en medio MLO, tentativamente identificadas como BAL por sus características fenotípicas: cocos agrupados y en cadena, Gram positivos y catalasa negativa. No hubo crecimiento bacteriano en medio MRS, lo que puede indicar que en la etapa de la FML desde la que se realizó el aislamiento predominan BAL del género *Oenococcus*.

Agradecimientos: Los autores agradecen a proyecto FONDECYT N° 11150921 por el apoyo financiero, al departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Viña Chillán.



**CLP1-21****El impacto de la adaptación a diferentes ambientes nutricionales revela diversas estrategias en el consumo de nitrógeno entre cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.**

**Brice C<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> Universidad de Santiago de Chile.

The strains populations of *Saccharomyces cerevisiae* are derived from different geographical origins, corresponding to extreme living environments. These adaptive pressures to various ecological niches generated behavioral differences between these strains, particularly in the fluxes of nitrogen sources consumption and consequently impact in their fermentation capacities. This phenotypic variability has been exploited by man for the production of diverse beverages (wine, sake, rum) from various matrices with different nitrogen composition. Nowadays the molecular mechanisms underlying these differences remain poorly elucidated.

In this context, this project aims to determine the genomic adaptations of yeast strains responsible for the phenotypic diversity regarding their ability to use the nitrogen sources in wine fermentation environments. To this end, we implemented a combined approach that includes a physiological characterization of a panel of strains from different food processes, and transcriptomic analysis, focusing our attention on the capacity of strains to use nitrogen sources".

First results on physiological characterization of strains deriving from different geographical origins, show differences in the total amount of consumed nitrogen, reflecting differences in their ability to use nitrogen. The composition of the residual nitrogen appeared to be in line with the nitrogen content of the ecological niches of which each strain originated. Moreover, changes in the dynamic of assimilation of individual amino acids were evidenced, suggesting differences between strains in the regulatory mechanisms of nitrogen transporters.

Programa Fondecyt Conicyt - Postdoctoral Grant 2015

**CLP1-22****La síntesis de las proteínas SpHBZ y UsHBZ del Virus linfotrópico humano de tipo 1 (HTLV-1) esta sujeta a control traduccional por distintos mecanismos de inicio de la traducción**

**Cáceres C J<sup>1</sup>**, Olivares E<sup>1</sup>, Angulo J<sup>1</sup>, Contreras N<sup>1</sup>, Pino K<sup>1</sup>, López-Lastra M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Centro de Investigaciones Médicas. Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

HTLV-1 is a retrovirus, which is the etiological agent of Adult T-cell leukemia (ATL) and HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP). During its replication HTLV-1 synthesizes two antisense messenger RNAs (mRNAs) that encode for two different versions of the HBZ protein. HBZ is critical for the viral replicative cycle and has been directly associated with HTLV-1 pathogenicity. One of these mRNAs corresponds to a splice version (SpHBZ) while the other is an unspliced mRNA (UsHBZ). Both mRNAs are different only in their 5' untranslated regions (5'UTR) and both mRNAs are equally expressed in blood cells recovered from ATL patients. Strikingly, the SpHBZ protein is more abundant in cells than the UsHBZ protein, suggesting a possible regulation at the level of mRNA translation initiation. In this study, we show that the SpHBZ mRNAs is translated with higher efficiency than the UsHBZ mRNA. Results suggest that the 5'UTR SpHBZ can recruit the 40S ribosomal subunit internally. Additionally, we show that the recruitment of the 40S ribosome subunit by SpHBZ 5'UTR is sensitive to edeine suggesting that SpHBZ 5'UTR recruit the 40S ribosome subunit upstream the start codon. Together, these results indicate that the expression of the different forms of the HTLV-1 HBZ protein is regulated at the level of translation initiation.

Work supported by FONDECYT 1130270 and grant P09/016-F de la Iniciativa Científica Milenio del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo de Chile. CJC and NC are supported by CONICYT doctoral fellowships

**CLP1-23****Detección y cuantificación de virus de la hepatitis A en muestras de moluscos asociados a brotes en la región del Bío-Bío 2014-2016**

**Cachicas V<sup>1</sup>**, Sanhueza G<sup>1</sup>, Manriquez J<sup>2</sup>, Sepúlveda C<sup>2</sup>, Jara M<sup>1</sup>, Paredez E<sup>1</sup>, Martínez M<sup>1</sup>, Soto C<sup>2</sup>, Silva A<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Microbiología de Alimentos, Departamento de Salud Ambiental, Instituto de Salud Pública de Chile. <sup>2</sup>Unidad de Epidemiología, Región del Bío Bío, SEREMI de Salud.

La Hepatitis A es causada por un virus ARN del género *Hepatovirus* de la familia *Picornaviridae*. El virus permanece en las heces y puede causar enfermedad con dosis tan bajas como 10 partículas virales. El virus es inactivado por temperatura. Los casos de HAV epidemiológicamente se asocian a casos por consumo de alimentos listos para el consumo, contaminación ambiental de vegetales y consumo de mariscos cosechados desde aguas contaminadas.

Chile es considerado un país de baja endemia con tasas menores a 6 desde el año 2006 excepto en Región de Tarapacá y del Biobío. En esta última Región han aumentado a tasas anuales a 50 con más de 1000 casos especialmente en el mes de Octubre. Las gestiones en salud han consistido en sostener las alertas de higiene y la vacunación en la población menor a 18 meses.

Con el objeto de evaluar la importancia de las aguas servidas y los moluscos de bancos naturales de la Región, se analizaron muestras con frecuencia quincenal desde Octubre del 2014. Las muestras consisten en 20 Litros de agua ó 2-4 gramos de hepatopancreas provenientes de 10 moluscos. Las aguas fueron concentradas por ultracentrifugación tangencial y ultracentrifugadas antes de la extracción de partículas virales. La detección se realizó por retrotranscripción utilizando PCR en tiempo real y la cuantificación se realizó utilizando una curva de calibración con material donado por Cefas UK. Los resultados permitieron identificar y cuantificar la presencia de HAV en la semana epidemiológica 24 en concentraciones entre 14 y 3880 copias del genoma de HAV en dos gramos de hepatopancreas. El emisario submarino contenía 16.000 copias de HAV en 20 litros de muestra.

Estos resultados han permitido confirmar a los moluscos como una de las matrices de riesgo, su contrastación molecular con muestras clínicas y cepas de referencia, así como intensificar las recomendaciones de Higiene que debe tener la región consumiendo mariscos cocidos.

**CLP1-24****Loci fimbriales chaperona-usher en patógenos bacterianos de importancia clínica: búsqueda masiva de homólogos a nivel inter-especie e intra-especie.**

**Cádiz L<sup>2</sup>**, Hernández D<sup>2</sup>, Valdes R<sup>1</sup>, Torres A<sup>2</sup>, Mansilla J<sup>2</sup>, Del Canto F<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

**Introducción:** La adherencia es una etapa clave en el proceso infectivo de patógenos bacterianos. En patógenos bacterianos Gram negativos, los pili ensamblados por la vía chaperona-usher (pili CU) constituyen el grupo más diverso y numeroso de determinantes de adherencia conocido hasta hoy. Por esta razón, muchos de ellos han sido propuestos como blanco de desarrollo de terapias anti-adherencia, ya sea en la formulación de vacunas o en la búsqueda de inhibidores del ensamblaje, todo con el objetivo de bloquear el ciclo infectivo bacteriano. Dado que se han descrito casos aislados de reactividad cruzada de anticuerpos entre componentes de pili CU, se sugiere que sería factible desarrollar terapias con efecto transversal, que bloquearían el ensamblaje o la actividad de distintos pili CU producidos por distintos patógenos bacterianos. En este trabajo se reporta la identificación masiva de loci de pili CU homólogos en genomas de bacterias patógenas.

**Métodología:** Se buscó homólogos de 171 genes de usher pertenecientes a loci CU de las nueve familias: alpha (16), beta (5), gamma-1 (25), gamma-2 (15), gamma-3 (15), gamma-4 (40), kappa (9), pi (26) y sigma (20); en la base de datos Ensembl Bacteria (versión 31), utilizando Large-scale blast score ratio (BSR). Se consideró un valor mínimo de 0.4 de BSR como punto de corte para potenciales homólogos.

**Resultados:** Genes de usher de pili CU de todas las familias presentan homología transversal entre dos y hasta cinco géneros de patógenos bacterianos. Los géneros más comunes en esta transversalidad fueron *Escherichia*, *Salmonella*, *Yersinia* y *Klebsiella*. A nivel intra-género se identificó homólogos transversales hasta en cuatro especies distintas a la vez, para un mismo gen de usher.

**Conclusión:** La identificación de genes de usher homólogos entre bacterias patógenas de importancia clínica, sugiere que sería factible diseñar estrategias transversales para el bloqueo de su adherencia.

Proyecto Fondecyt 11150966

**CLP1-25****Caracterización del gen *yqhC* de *Salmonella enterica* serovar Typhi y su rol durante el ciclo infectivo**

**Canales V<sup>1</sup>**, Hidalgo A<sup>1</sup>, Villagra N<sup>1</sup>, Mora G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Andres Bello.

Las etapas de adherencia, invasión y proliferación son pasos críticos en la interacción de *Salmonella* con su hospedero. Existen genes encargados de regular el funcionamiento y la sincronización de cada una de las etapas para lograr la infección de manera exitosa. El gen *yqhC* codifica una proteína de unión a DNA la cual pertenece a la familia AraC/XylS de reguladores transcripcionales, los cuales regulan la respuesta a estrés y la virulencia en diversos patógenos bacterianos. Mediante un estudio de microarreglos, se demostró la participación de *YqhC* como regulador transcripcional, sobre genes relacionados principalmente con la adherencia e invasión al hospedero. Teniendo en cuenta además que el gen *yqhC* se encuentra anotado como pseudogen en varios serotipos tifoidales, (e.g. *S.Typhi* y *S.Paratyphi*), se decidió enfocar este estudio en dicho pseudogen con el fin de evaluar cómo la pérdida de la función asociada a este gen ayudó a la evolución de *S.Typhi* en un patógeno hospedero estricto. Para poder determinar el rol que desempeña el gen *yqhC* durante el ciclo infectivo de *Salmonella*, se desarrollaron mutantes que poseen este gen deletado en *S.Typhi* y en *S.Typhimurium*. Se realizaron ensayos para determinar los cambios sufridos en los procesos de adherencia, invasión y proliferación por parte de las mutantes en células de cultivos pertenecientes a las líneas HEp-2, HT-29 y T84. La mutación del gen *yqhC* en *S.Typhi* y *S.Typhimurium* produce defectos en invasión y proliferación. Con esto se demuestra la participación del gen *yqhC* ya sea de manera directa o indirecta en el ciclo infectivo. El hecho de obtener un fenotipo al deletar *yqhC* nos indica que no sería un pseudogen en *S.Typhi*. En este momento, los estudios se enfocan en poder conocer la regulación del gen *yqhC* por reguladores globales como PhoPQ y RPOS.

FONDECYT 1151393 (GM) y 11150588 (AH)

**CLP1-26****Estrategias bioquímicas para identificar moléculas neuroprotectoras de la dieta bacteriana de *C. elegans***

**Caneo M<sup>1</sup>**, Vamshidar G<sup>2</sup>, Kurzchalia T<sup>2</sup>, Calixto A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genómica, Biología, Universidad Mayor.<sup>2</sup>Cell molecular and Biology Max Plank Institute.

La dieta impacta directamente a los organismos generando cambios en la expresión génica así como en su fisiología. Sin embargo, la manera en la cual los nutrientes actúan de manera individual o en sinergia para generar dichos efectos, es aun desconocido.

En este trabajo utilizamos un modelo genético de muerte neuronal para evaluar el efecto de componentes específicos de distintas dietas bacterianas en la neurodegeneración. Para esto utilizamos 2 cepas bacterianas de *E. coli*: OP50 y HT115. La neuronas de animales alimentados con OP50, degeneran en tres días desde la eclosión del gusano, mientras que en HT115, las neuronas sobreviven por el doble del tiempo. Para disectar los componentes individuales que son protectores en la HT115, se realizaron a) análisis diferenciales de los transcriptomas de ambas bacterias (ver resumen de Urrutia et al.), y b) análisis metabólicos, para identificar específicamente él o los metabolitos que generan la protección neuronal y que se encuentran activos diferencialmente en HT115 respecto de OP50. Con el fin de disectar los componentes protectores separamos la bacteria en dos fases, una polar (aminoácidos, ácidos nucleicos, azúcares y fosfolípidos), y otra no polar (Triacilgliceroles y colesterol) y estos se mezclaron con OP50. Ambas fases mostraron efectos protectores, sin embargo la fase polar mostró mejores resultados. Posteriormente la fase polar se dividió en fase orgánica (aminoácidos, ácidos nucleicos, azúcares) y acuosa (fosfolípidos), para determinar específicamente los componentes diferenciales entre HT115 y OP50 mediante TLC-2D (Cromatografía de capa fina en 2 dimensiones). Finalmente, mediante la utilización de espectrometría de masa se determinara cuales son los distintos componentes que se encuentran en la fase polar (orgánica) de HT115 respecto de OP50, los cuales se utilizaran para evaluar su posible efecto en restablecer el fenotipo de protección neuronal observado en HT115 mediante la observación morfológica de la neuronas del tacto. Fondecyt USA2013-0020 y 1131030-2013

## CLP1-27

**Diseño y puesta a punto de estrategia experimental para la generación de un cepario oficial de *Piscirickettsia salmonis***

**Carril G<sup>1</sup>**, Albornoz R<sup>2</sup>, Avendaño-Herrera R<sup>3</sup>, Figueroa J<sup>4</sup>, Gómez F<sup>1</sup>, Haussmann D<sup>5</sup>, Labra Á<sup>6</sup>, Lagos F<sup>5</sup>, Marshall S<sup>7</sup>, Puentes C<sup>5</sup>, Vásquez C<sup>8</sup>, Yañez A<sup>9</sup>, Avilés F<sup>10</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular. Instituto de Biología Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <sup>2</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología Universidad Austral de Chile. <sup>3</sup>Investigador Principal FONDAP "Interdisciplinary Center for Aquaculture Research - INCAR". Director Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuicola Universidad Andrés Bello. <sup>4</sup>Centro FONDAP: Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR). Laboratorio de Biología Molecular de Peces (LabBMP). Instituto de Bioquímica y Microbiología Universidad Austral de Chile. <sup>5</sup>Laboratorio de Biología Molecular de Peces Universidad Austral de Chile. <sup>6</sup>Laboratorio de Patógenos Acuícolas Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <sup>7</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular. Instituto de Biología. Fraunhofer Chile Research Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <sup>8</sup>Dirección Nacional SERNAPESCA. <sup>9</sup>Laboratorio Diagnóstico y terapia. Instituto de Bioquímica y Microbiología Universidad Austral de Chile. <sup>10</sup>Director Ejecutivo Proyectos FIE SERNAPESCA.

El Estado debe proteger el patrimonio sanitario del país, para lo cual deben establecerse instrumentos de vigilancia que permitan diagnósticos estandarizados y validados para ser implementados y aplicados por los laboratorios autorizados por Sernapesca. Con este fin, se designaron laboratorios de referencia nacionales de diagnóstico, los que deben desarrollar y validar métodos para la vigilancia y monitoreo de enfermedades de alto riesgo, así como asesorar al Servicio en aspectos técnicos en el ámbito de su especialidad. La Piscirickettsiosis o SRS corresponde a la enfermedad infecciosa de mayor impacto en la fase de agua de mar del ciclo de cultivo de salmones, siendo responsable de hasta un 90% de la causa infecciosa. Diferentes estudios respecto del agente causal *Piscirickettsia salmonis*, han señalado la existencia de diferentes variantes del mismo y sugieren diferencias tanto en la presentación clínica de la enfermedad como en la susceptibilidad a los diferentes esquemas de tratamiento, lo cual aún carece de un sólido respaldo científico. Dado lo anterior, y como laboratorio de referencia, es de sumo interés recabar mayor información al respecto y crear a nivel nacional una colección central de variantes de la bacteria que pueda servir de insumo para futuras investigaciones en términos del patógeno, enfermedad y/o sus alternativas de tratamiento o prevención. El establecimiento de un Cepario nacional de *Piscirickettsia salmonis*, se inició con la donación de aislados desde diferentes laboratorios tanto del ámbito académico como privado, los que fueron evaluados en base a su crecimiento en diferentes medios, secuenciación del gen 16S e ITS y posteriormente criopreservados. Todo esto permitió para cada aislado, una autenticación molecular, caracterización que permite obtener un amplio espectro de la diversidad genómica de *P. salmonis*. Disponiéndose así de una herramienta abierta y confiable, sin uso comercial, en la que se podrán depositar aislados a largo plazo, garantizando su disponibilidad y calidad, además se podrán solicitar aislados para nuevas investigaciones, disponiendo de una base de datos online con toda la información recaudada, lo que aportará directamente en el progreso del control del SRS.

Fondo de Inversión Estratégica a través del proyecto FIE V014 y FONDAP-INCAR 15110027.



**CLP1-28****Regulación positiva del gen PIR en cáncer es dependiente de las oncoproteínas E6 y E7 de virus papiloma humano de alto riesgo.**

**Carrillo D<sup>1,2</sup>**, Muñoz J P<sup>1,2</sup>, Leal G<sup>1,2</sup>, Huerta H<sup>2</sup>, León O<sup>1</sup>, Urzúa U<sup>2</sup>, Tapia J<sup>2</sup>, Aguayo F<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Virología, Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Departamento de Oncología Básica y Clínica, Medicina, Universidad de Chile. (Sponsored by Francisco Aguayo)

El virus papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR) se relaciona etiológicamente a tumores de cuello uterino, anogenitales y de cabeza y cuello. Los marcadores de VPH-AR relacionados a carcinogénesis son los oncogenes E6 y E7, los cuales desestabilizan a p53 y pRb, respectivamente. En este estudio, hemos caracterizado células epiteliales orales y de cáncer de cuello uterino que expresan ectópicamente o endógenamente E6 y E7 de VPH-AR. Ensayos mediante DNA microarrays confirmados con RT-qPCR revelaron que PIR, un posible oncogén, es regulado positivamente en células epiteliales orales humanas que expresan E6 y E7 de VPH16. Además, hemos demostrado que PIR es expresado de manera dependiente de la carga viral en células de cáncer de cuello uterino VPH-AR positivas y es indetectable en células VPH negativas. Luego demostramos que la expresión de PIR es modulada por las oncoproteínas E6 y E7 de VPH-AR. Concomitante a lo anterior, usando ensayos de ganancia y pérdida de función, demostramos que la oncoproteína E7 tiene mayor actividad para inducir la sobreexpresión de PIR con respecto a E6. Sin embargo, E6 y E7 de VPH11 (bajo riesgo) no son capaces de inducir la sobreexpresión de PIR en células epiteliales orales o de cáncer de cuello uterino. Por otra parte, usando un siRNA para el silenciamiento de PIR en células tumorales de cuello uterino VPH-AR positivas, observamos un aumento de RNA mensajeros de E-cadherina y una disminución de los transcritos de Slug, Zeb y Snail, sugiriendo que PIR está involucrado en la transición epitelial mesenquimal (TEM). Finalmente, la capacidad migratoria de células transfectadas con un interferente para PIR, disminuyó significativamente con respecto al control. Se concluye que la expresión de PIR en la regulación de TEM, es altamente dependiente de la expresión de las oncoproteínas E6 y E7 de VPH-AR.

Proyecto Fondecyt 1161219

**CLP1-29****Detección de una forma variante de *Piscine reovirus* (PRVr) en mortalidades de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) afectadas por el Síndrome Idiopático de la Trucha Arcoíris (SIT).**

**Cartagena J**<sup>1,2</sup>, Tambley C<sup>1,2</sup>, Sandino A M<sup>1,2</sup>, Spencer E<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología, Centro de Biotecnología Acuícola (CBA), Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>2</sup>Laboratorio de Virología Consorcio ICTIO Biotechnologies. (Sponsored by Ana María Sandino)

En Chile, el cultivo de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es una actividad importante dentro de la acuicultura, la cual no está libre de las enfermedades que provocan diversos agentes patógenos marinos. En 2011 se reportó un aumento anormal de las mortalidades de *O. mykiss* en distintos centros de cultivo del sur de Chile, donde las truchas afectadas mostraron signos clínicos consistentes con un trastorno circulatorio que se denominó como Síndrome Idiopático de la Trucha Arcoíris (SIT). Actualmente la etiología de ésta enfermedad es desconocida, aunque se estableció que ningún patógeno marino de alto riesgo estaría involucrado, lo que no excluye que patógenos marinos no considerados de alto riesgo estén relacionados con SIT. Los signos clínicos que presentan las truchas arcoíris afectadas con SIT son similares a los signos clínicos descritos en Salmón del Atlántico (*S. salar*) afectados por la enfermedad conocida como *Heart and Skeletal Muscle Inflammation* (HSMI), la cual en 2010 se describió que estaría asociada con el virus denominado *Piscine reovirus* (PRV). Por lo tanto, es probable que una forma variante de PRV sea el agente etiológico causante de SIT en *O. mykiss* en Chile. Análisis por qRT-PCR realizados en nuestro laboratorio revelaron que muestras de *O. mykiss* provenientes de un brote de SIT contenían una forma variante de PRV (PRVr), que también fue descrita recientemente en Noruega afectando a *O. mykiss* de cultivo en ese país. A partir de esos resultados se logró clonar y secuenciar el segmento S1 completo de PRVr y posteriores análisis bioinformáticos revelaron que las secuencias nucleotídicas obtenidas presentan un ~99 % de identidad con respecto a la secuencia de PRVr reportado en Noruega y un ~75 % de identidad en comparación a la secuencia del segmento genómico S1 de PRV. Además, se diseñó un ensayo por qRT-PCR con sondas TaqMan® con el fin de detectar de manera específica a PRVr y se estableció que no existe co-infección con PRV en las muestras de *O. mykiss* afectadas con SIT.

Proyecto CORFO 13CTI-21527

**CLP1-30****Análisis y efecto de SNPs sobre genes de resistencia a antibióti**

**Cartes C**<sup>1</sup>, Haussmann D<sup>2,3</sup>, Lagos F<sup>2</sup>, Castro D<sup>1</sup>, Figueroa J<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.<sup>2</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología - Centro FONDAF, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.<sup>3</sup>Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás.

Piscirickettsiosis es una de las enfermedades más perjudiciales en el cultivo de salmones en Chile, causando grandes pérdidas económicas en la industria. El agente etiológico es *Piscirickettsia salmonis*, bacteria Gram negativo, intracelular facultativo. Los tratamientos en los centros de cultivos involucran altas dosis de antibióticos, principalmente oxitetraciclina y florfenicol, lo que favoreció la proliferación de bacterias resistentes. Debido a esto es de fundamental importancia el conocimiento acerca del grado de resistencia que distintas cepas presenten hacia estos antimicrobianos, así como mecanismos moleculares que podrían estar involucrados. En este trabajo se realizó un análisis *in silico* del genoma de 10 distintas cepas de esta bacteria, utilizando herramientas bioinformáticas. Se seleccionaron genes putativos de resistencia a oxitetraciclina y florfenicol. Se identificó y analizó el número de SNPs en cada secuencia nucleotídica y su relación con la resistencia a estos dos antibióticos, tomando como referencia la cepa tipo LF-89, la cual posee un número similar de genes de resistencia a las demás cepas, pero es altamente sensible a los antibióticos usados. Se construyó un árbol filogenético basado en SNPs, para seleccionar una cepa representativa por cada *cluster* o genogrupo de la bacteria y se evaluó la concentración mínima inhibitoria (CIM) para estos antibióticos y el nivel de expresión en los genes seleccionados en base a RT-qPCR. De los clusters resultantes se seleccionaron 3 cepas (LF-89, IBM009 e IBM012), y se correlacionó en número de SNPs en los genes de resistencia, con los valores de CIM de cada cepa. Se observó que la susceptibilidad diferencial de las cepas a los antibióticos analizados, no parece estar vinculada con el número de genes de resistencia, sino que más bien con los niveles de expresión y con SNPs relevantes en cada uno de los genes investigados, los que parece generar cambios estructurales relevantes en la estructura proteica.

Proyecto FONDECYT 1130069 y Centro FONDAF (INCAR) 15110027

**CLP1-31****Desafíos y potenciales de la secuenciación con nanoporos en microbiología clínica**

**Castro M<sup>1</sup>**, Vera P<sup>1</sup>, Melis F<sup>1</sup>, Ugalde J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo.

Con el avance de la secuenciación de nueva generación, las aplicaciones del estudio de genomas han ido en aumento, incluyéndose su uso en taxonomía, epidemiología, y diagnóstico clínico. Esto es especialmente relevante en microbiología e infectología, donde la correcta identificación de los patógenos es crucial para la toma de decisiones médicas. Por esto, se han dirigido esfuerzos hacia la aplicación de estas técnicas en el contexto clínico, creándose tecnologías portátiles y de fácil uso como la ofrecida por Oxford Nanopore. Su tecnología de secuenciación por lectura de molécula única y análisis directo de las lecturas entrega la posibilidad de estudiar los datos en tiempo real, ofreciendo una alternativa interesante para la identificación de bacterias y su perfil de resistencia antibiótica en forma precoz, reduciendo el tiempo entre la toma de muestra y la obtención del resultado facilitando la elección de antibióticos. Presentamos la experiencia del uso de esta tecnología en un centro universitario. Planteamos poner en marcha la técnica, evaluar su factibilidad, y la capacidad de identificación de agentes y patrones de resistencia, haciendo uso de herramientas bioinformáticas para análisis de los datos. Se secuenció una muestra control de bacteriófago lambda logrando su correcta identificación y cobertura, obteniendo lecturas 7200 pb en promedio, acorde con lo ofrecido por la técnica. Sin embargo, nos vimos enfrentados a sus limitaciones, al obtener un número de lecturas de menor a lo reportado por la comunidad (2600 v/s 11000), de bajas calidades, y limitaciones propias de las celdas, al contar con menos de 10% de los poros. Esto impidió caracterizar posteriormente una muestra problema. Concluimos que si bien las aplicaciones presentadas son factibles y prometedoras, queda por mejorar la calidad de los instrumentos y datos obtenidos permitiendo que esta no sea una limitante, y centrar los esfuerzos en el correcto análisis de los datos.

Fondecyt Iniciación 11140666

Plan de Mejoramiento Institucional PMI Universidad del Desarrollo 1204

**CLP1-32****Evaluación de la funcionalidad de las proteínas involucradas en el metabolismo y la transducción del c-di-GMP codificadas en el elemento integrativo y conjugativo ICEAcaTY.2 de *Acidithiobacillus caldus***

**Castro M**<sup>1</sup>, Pagliai F<sup>2</sup>, Lorca G<sup>3</sup>, Guiliani N<sup>4</sup>, Quatrini R<sup>5</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Ecofisiología Microbiana Fundación Ciencia y Vida.<sup>2</sup>Department of Microbiology and Cell Science, Genetic Institute, University of Florida.<sup>3</sup>Department of Microbiology and Cell Science, Genetic Institute, University of Florida.<sup>4</sup>Department of Biology, Sciences, University of Chile.<sup>5</sup>Microbial Ecology Laboratory Fundación Ciencia y Vida.

The intracellular nucleotide c-di-GMP has recently emerged as one of the central elements of the signal transduction network linking perception of environmental or intracellular cues to specific alterations in cellular function. In response to different input signals, the opposing activities of diguanylatecyclases (DGCs) and phosphodiesterases (PDEs) control the cellular concentration of c-di-GMP. Inside the cell, c-di-GMP binds a currently unknown number of effector molecules that subsequently interact with cognate target components to produce a variety of output phenotypes. Given the multiplicity of c-di-GMP related genes in most bacterial genomes and their scattered distribution within the genomes, the elements that belong to the same c-di-GMP control module are difficult to uncover.

Recently, an integrative conjugative element -ICEAcaTY.2- has been characterized in the extreme acidophile *Acidithiobacillus caldus* ATCC 51756. ICEAcaTY.2 is an actively excising element of widespread occurrence in a collection of *At. caldus* strains, that behaves as a cohesive heritable unit. Bioinformatic analysis of ICE.2-type elements has revealed that c-di-GMP synthesis/degradation functions and putative c-di-GMP binding effectors and targets co-occur within this Mobile Genetic Element (MGE).

By heterologous complementation of *Salmonella* mutant strains, we evaluated DGC and PDE activities of *At. caldus* proteins 1853 and 1879. Red, dry and rough (rdar) morphotype indicates that 1879 protein can act as a DGC. However, phenotypic characteristic related to PDE activity were less evident for both proteins. Moreover, we assay c-di-GMP binding to putative effector proteins coded in ICEAcaTY.2 by Isothermal Titration Calorimetry (ITC). Our result indicates that 1908 PilZ protein is able to bind c-di-GMP specifically. Bioinformatic characterization and genetic context of 1908 suggest that this protein is involved in pili type 4 formation. Taken together, our results suggest that 1987 and 1908 act as a c-di-GMP control module involved in the transition from motile planktonic state to the attached multicellular state. FONDECYT GRANTS 314003, 1140048 and 1160702; Basal PFB-16.

**CLP1-33****La toxicidad del ácido tetracloroáurico en *E. coli* está mediada por el establecimiento de un estrés oxidativo.**

**Castro M**<sup>2</sup>, Arenas F<sup>1</sup>, Vásquez C<sup>1</sup>, Muñoz C<sup>1</sup>, Reinoso C<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás. (Sponsored by Antonio Castillo Nara)

La síntesis de nanopartículas metálicas utilizando sistemas biológicos ha sido propuesta por diferentes investigadores como una alternativa a la utilización de métodos de síntesis químicos, que requieren altas cantidades de energía y pueden generar subproductos tóxicos. En particular, el compuesto ácido tetracloroáurico (HAuCl<sub>4</sub>) se utiliza como reactivo para generación de nanopartículas metálicas de oro en diferentes modelos de estudio. Sin embargo, no se conocen los efectos que HAuCl<sub>4</sub> puede generar al metabolismo celular. La comprensión de los efectos del HAuCl<sub>4</sub> en el metabolismo celular podrá contribuir a entender de mejor manera la formación de nanoestructuras intracelulares de este metal con miras a diseñar sistemas eficientes de biosíntesis de nanopartículas metálicas utilizando bacterias. Resultados obtenidos utilizando como modelo cepas de *E. coli* revelaron que las células expuestas a HAuCl<sub>4</sub> experimentaron alteraciones en la tasa de proliferación celular, además mostraron un incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) en especial de anión superóxido. Además, los efectos tóxicos del compuesto se ven fuertemente disminuidos en anaerobiosis, lo que sugiere que el HAuCl<sub>4</sub> ejerce un efecto tóxico mediante el establecimiento de un estrés oxidativo.

Universidad Santo Tomás TAS 018686 (Dr. Miguel Castro)

FONDECYT de Iniciación en la Investigación 11140334 (Dr. Felipe Arenas)

**CLP1-34****Descripción del genoma de la nueva cepa *Exiguobacterium sp.* SH31 y estudio de genómica comparativa de este género.**

**Castro-Severyn J**<sup>1,3</sup>, Remonsellez F<sup>2</sup>, Valenzuela S L<sup>3</sup>, Fortt J<sup>2</sup>, Salinas C<sup>1</sup>, Aguirre C<sup>1</sup>, Briones A<sup>1</sup>, Cabezas C<sup>1</sup>, Pardo-Esté C<sup>1</sup>, Castro-Nallar E<sup>3</sup>, Saavedra C P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología Aplicada y Extremofilos, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte.<sup>3</sup>Laboratorio de Genómica Microbiana, Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Claudia P Saavedra)

Los microorganismos poliextremofilos poseen capacidades fisiológicas que le confieren resistencia a ciertos factores y condiciones, las cuales son evidencia de adaptación evolutiva a los ambientes extremos que habitan, en este contexto los mecanismos moleculares a través de los cuales logran esta resistencia aun no han sido totalmente esclarecidos. Así, nos propusimos secuenciar y ensamblar el genoma de una cepa perteneciente al género *Exiguobacterium*, aislada del desierto de Atacama, en este género se han caracterizado cepas aisladas de diversos ambientes extremos desde termas oceánicas hasta permafrost, demostrando su capacidad de adaptación y plasticidad. Se realizaron análisis filogenéticos y funcionales de pan-genoma y *Bidirectional Best Hits*. Fuimos capaces de comparar la cepa SH31 (nueva) con las 33 disponibles públicamente (GenBank) y corroborar la división del género en dos grandes grupos previamente reportados como asociada al tipo de ambiente de aislamiento. Los análisis funcionales muestran una gran variabilidad entre cada cepa, demostrado por los diferentes patrones de genes, correlacionándose con las condiciones a las que cada cepa está expuesta. Además una de las características más relevantes compartidas entre las cepas es la presencia de genes relacionados a mecanismos de resistencia a una gran variedad de metales. La Cepa *Exiguobacterium sp.* SH31 pertenece al grupo II de la clasificación filogenética lo cual se correlaciona con las condiciones del ambiente donde fue aislada y está relacionada cercanamente con la otra cepa altiplánica S17, con la cual comparte una superior resistencia a arsénico, otro hecho interesante es el primer reporte de los genes *pgaB* y *pgaC* en este género, relacionados con la síntesis y formación de biofilm como estructura de resistencia, todas estas capacidades necesitan evaluación fenotípica experimental como siguiente etapa que nos acercara a descifrar los mecanismos moleculares de adaptación evolutiva y encontrar usos ventajosos de estas propiedades de interés y potencial biotecnológico.

FONDECYT Regular: 1160315



**CLP1-35****Alta prevalencia de SPATEs en cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con enfermedad de Crohn.**

**Céspedes S<sup>1</sup>**, Saitz W<sup>1</sup>, Del Canto F<sup>1</sup>, Gutierrez D<sup>1</sup>, Vidal R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Microbiología y Micología, Medicina, Universidad de Chile.  
(Sponsored by Roberto Vidal Alvarez)

*Escherichia coli* adherente invasiva (AIEC) ha sido involucrada en los últimos años en la etiología de la enfermedad de Crohn (EC). AIEC presenta la habilidad de adherirse e invadir células epiteliales, sobrevivir en macrófagos y no producir factores de virulencia presentes en cepas diarregénicas de *E.coli*. Pese a conocer el fenotipo AIEC, poco se sabe del mecanismo de patogenicidad o los factores de virulencia asociados a ella. Recientes estudios sugieren que Vat-AIEC, una serin-proteasa autotransportadora de *Enterobacteriaceae* (SPATE), estaría involucrada en la colonización de la mucosa intestinal. Las SPATEs son serin-proteasas secretadas por  $\gamma$ -proteobacterias y han sido clasificadas en clase-1 (todas con actividad citotóxica) y clase-2 (con actividad proteolítica sobre mucina y sobre glicoproteínas presentes en la superficie de leucocitos). A la fecha Vat-AIEC ha sido asociada a algunas cepas del patotipo AIEC, pero poco se sabe de la asociación de otras SPATEs a cepas AIEC. Por esto, el objeto de este trabajo fue investigar la prevalencia de genes que codifiquen SPATEs en cepas AIEC aisladas de pacientes con EC. Fueron estudiadas 47 cepas AIEC, aisladas desde biopsias de pacientes EC y 16 de controles. La detección de SPATEs fue realizada por PCR-RFLP. 34/47 aislados clínicos, presentaron genes que codifican para una o más SPATEs a diferencia de controles con 6/16. Ambas clases de SPATEs se presentaron en 19/47 cepas AIEC y 4/16 controles. Las SPATEs clase-1 identificadas fueron EcPCN033-C1sp, EcSE15-C1sp, EcM605-C1sp, Sat, y EspP en tanto que las de clase 2 fueron PicU, Vat, EcSE15-C2sp, NA144-c2sp, EcPCN033-C2sp. Como conclusión podemos decir que los aislados de *E.coli* obtenidos de pacientes EC, presentan una alta prevalencia de genes que codifican SPATEs, siendo levemente más prevalentes las SPATEs clase -1, lo que podría explicar en parte la inflamación asociada a pacientes que padecen esta enfermedad.

FONDECYT de Postdoctorado 3140468

**CLP1-36****Inmovilización de hongos en alginato de calcio y su potencial en la biorremediación de colorantes sintéticos**

**Chávez D<sup>1</sup>**, Araya X<sup>1</sup>, Machuca A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnologías, Universidad de Concepción. (Sponsored by Viviana Cachicas)

Estudios recientes señalan que la inmovilización del micelio de hongos de la pudrición blanca de la madera (HPB) en diferentes matrices puede potenciar su capacidad para degradar compuestos químicos recalcitrantes y tóxicos. El presente estudio evaluó la viabilidad de los HPB *Bjerkandera adusta*, *Ganoderma australe* y *Trametes versicolor* encapsulados en alginato de calcio y su capacidad de remoción de los colorantes sintéticos Azul de Remazol Brillante R (RBB-R) y Rojo Reactivo 120 (RR-120). Una vez inmovilizada la biomasa miceliar, se evaluó la capacidad de remoción de colorantes y el efecto de variables como la cantidad de *pellets*, concentración de colorantes, pH y adición de iones Cu (II) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se comprobó que todas las especies soportaron el proceso de fragmentación del micelio y su posterior encapsulación, logrando un crecimiento activo en 24 h. El micelio encapsulado permaneció viable y activo entre 4 y 6 meses a 4 °C. En medio sólido todas las especies demostraron, en mayor o menor grado, capacidad de remoción de ambos colorantes, en cambio en medio acuoso solo *T. versicolor* (cepas 73 y 81) fue efectiva. La cepa 73 fue más eficiente en el tratamiento de RR-120 (10 mg/L) a pH 3 en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en cambio la cepa 81 fue más eficiente con RBB-R (100 mg/L) a pH 5-6 en presencia de Cu y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La cantidad óptima de *pellets* en estos tratamientos fue de 60 para ambas cepas. La cepa 81 mantuvo su capacidad de remoción durante cuatro ciclos de reutilización, lo que demuestra que los hongos inmovilizados pueden ser reutilizados en el tiempo sin perder su actividad. Estos resultados demuestran el potencial de los hongos inmovilizados en la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes como los efluentes textiles.

**CLP1-37****Caracterización preliminar de un gen de xilanasas de una nueva especie de hongo antártico**

**Chávez R<sup>1</sup>**, Gil-Durán C<sup>1</sup>, Ravanal M C<sup>2</sup>, Vaca I<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas y Matemáticas, Universidad de Chile.<sup>3</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El xilano es el polisacárido de hemicelulosa más común en las paredes celulares vegetales. La biodegradación del xilano requiere de un conjunto de enzimas llamadas xilanasas. La mayoría de los hongos xilanolíticos estudiados provienen de ambientes terrestres mesófilos o termófilos. Por el contrario, se sabe muy poco acerca de actividades xilanolíticas en hongos marinos antárticos. En nuestro laboratorio, recientemente hemos aislado una cepa del hongo marino antártico *Cladosporium* sp. que mostró una alta actividad xilanolítica a baja temperatura. En el presente trabajo, se muestran los resultados preliminares de la caracterización genética de este hongo y de su actividad xilanolítica. Utilizando tres marcadores moleculares apropiados, se determinó la posición filogenética de esta cepa dentro de las 77 especies conocidas del género *Cladosporium*. Nuestros resultados indican que esta cepa es filogenéticamente diferente a todas las otras especies conocidas del género y que probablemente se trata de una nueva especie no descrita. Por otra parte, mediante PCR, logramos aislar parte de un gen (750 pares de bases) que codifica para una proteína con alta similitud a endoxilanasas de hongos de ambientes fríos. Este gen se expresa en presencia de xilano como única fuente de carbono, y esta expresión correlaciona con la producción de máxima actividad xilanolítica, observada al día 2 de cultivo a 15°C. En conjunto, los resultados sugieren que este gen podría codificar una xilanasas que actúa a baja temperatura en esta nueva especie de hongo antártico.

Este trabajo fue financiado por el proyecto INACH G\_03-14 y por DICYT-USACH

**CLP1-38**

**Detección de *Ureaplasma urealyticum* en muestras de orina de segundo chorro en hombres y mujeres con sintomatología compatible con infección urinaria de la ciudad de Iquique, Chile** (*Ureaplasma urealyticum* detection in urine samples second jet from men and women with compatible sintomatology of an urine infection from the city of Iquique, Chile)

**Cifuentes E.**, Medina, Constanza., Celis, Roberto., Olivares, Nilo., Naranjo, Ximena., Cortés, Ivania, Tecnología Médica, Facultad de la Salud, Universidad Santo Tomas

De acuerdo a American Sexual Health Association *Ureaplasma urealyticum* es una especie bacteriana relacionada con infecciones del tracto urinario (ITU), específicamente con uretritis no gonocócica tanto en hombres como en mujeres. El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia del microorganismo en muestras de orina de segundo chorro de hombres y mujeres de la ciudad de Iquique que presentan sintomatología compatible con una infección del tracto urinario. Para esto se realizó un análisis bioquímico mediante el kit microbiológico *Mycoplasma* IES, el cual se basa en la reacción del cultivo y bioquímica donde la urea puede ser descompuesta por la ureasa del *U. urealyticum* y liberar NH<sub>3</sub> provocando un aumento del pH del medio líquido generando un viraje de color que indica un resultado positivo, luego se efectuó una reacción PCR con el fin de detectar la presencia del gen de la ureasa (480pb) característico de *U. urealyticum* por medio de dos tipos de extracción de ADN (Técnica c Cloroformo-Fenol-Alcohol Isoamílico y kit de extracción GeneJet DNA) y se finalizó con 3 electroforesis a un total de 59 muestras obtenidas en diferentes periodos de tiempo. Dentro de los resultados obtenidos se detectó una banda de 480 pares de bases correspondiente al gen de la ureasa, en cuanto a los resultados del kit la misma muestra (n°3) en la que se visualizó la banda en cuestión se presentaron los parámetros indicados por el proveedor para la validación del resultado positivo (Positivo UU, C+, UU ≥ 10<sup>4</sup>; Resistente a Clindamicina, OFL y Ciprofloxacino), cabe destacar que se utilizó el control provisto por el proveedor en el kit comercial y para la PCR se utilizó una muestra positiva. A partir de los resultados se puede concluir que la muestra de orina de segunda micción es viable para la detección del patógeno tanto por medio del kit microbiológico como por la técnica de amplificación en cadena de ADN PCR.

**CLP1-39****Caracterización parcial de la actividad proteasica de la bacteria *Brevibacillus thermoruber* aislada desde fuentes termales de la X región, Chile.**

**Contreras E<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Departamento de Salud Universidad de Los Lagos.

El estudio de los microorganismos de ambientes extremos se ha intensificado en las últimas décadas. Las bacterias termófilas son un foco de estudio debido a que poseen biomoléculas termoestables que permiten su sobrevivencia a altas temperaturas. Estas características son atractivas para aplicaciones biotecnológicas. En esta investigación se caracterizó parcialmente la actividad proteolítica de una bacteria termófila aislada desde las termas de Ralún, décima región (41° 21' 47.35" S 72° 20' 13.47" W).

La bacteria aislada se identificó como *Brevibacillus thermoruber* mediante el análisis de la secuencia parcial del 16s rRNA, obteniendo un 99% de identidad. Posteriormente se realizó una búsqueda bioinformática de secuencias que codifican proteasas en el genoma de *Brevibacillus thermoruber* 423 depositado en la base de datos de NCBI. Las proteasas fueron caracterizadas según masa molecular, punto isoeléctrico y vida media estimada en *E. coli*, utilizando los algoritmos RAST y ProtParam. Finalmente se visualizó sus estructuras tridimensionales mediante el programa SWISS-MODEL. Las tres proteasas detectadas poseen una masa molecular de 81,7; 50,8; 93,6 kDa y punto isoelectricos de 4,6; 6,6 y 9,4 respectivamente. Estas corresponden a Peptidasas S8 y serina proteasas, características del género *Brevibacillus*. Luego, mediante ensayos de actividad proteolítica por hidrólisis de gelatina a diferentes temperaturas (40 °C, 50 °C, 60 °C y 70 °C) se verificó la actividad de las proteasas de la bacteria aislada.

Los resultados obtenidos a la fecha sugieren que las termas de la X región pueden ser una nueva fuente para la búsqueda de biomoléculas activas, termoestables y con aplicaciones para la industria biotecnológica y biomédica.

Agradecimientos Dirección de investigación Universidad de los Lagos 09/14 y Proyecto PAI N° 79112042.

**CLP1-40****Organización estructural y funcional de genes regulados por Cyc8 y Tup1 en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous***

**Córdova P<sup>1</sup>**, Alcaíno J<sup>1</sup>, Baeza M<sup>1</sup>, Cifuentes V<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

*Xanthophyllomyces dendrorhous* es una levadura basidiomicete productora de carotenoides de importancia económica como beta-caroteno y astaxantina. Los mecanismos regulatorios de la carotenogenesis en esta levadura han sido de gran interés, estudiándose principalmente la regulación a nivel transcripcional. En este contexto, se ha descrito que los co-represores Cyc8 y Tup1 participan en la regulación de la carotenogenesis y que mutantes *cyc8* o *tup1* sobreproducen carotenoides. En *S. cerevisiae*, el complejo Cyc8-Tup1 regula la expresión de aproximadamente 180 genes mediante su interacción con distintos reguladores de unión a DNA (como Mig1, Rox1 y Crt1) que reconocen secuencias regulatorias específicas en los promotores blanco.

Con la intención de ampliar el conocimiento sobre la función de Cyc8-Tup1 en *X. dendrorhous*, el objetivo de este trabajo fue identificar los posibles genes blanco de este complejo y determinar los procesos biológicos potencialmente afectados en cepas mutantes *cyc8* y *tup1*. Para ello, se realizaron estudios de RNA-seq utilizando RNA extraído desde cultivos de una cepa silvestre de *X. dendrorhous* y de cepas mutantes *cyc8* y *tup1*. Los transcriptomas obtenidos fueron analizados con el programa CLC Genomics Workbench. Mediante análisis transcriptómico comparativo se identificaron alrededor de 170 genes sobrerrepresentados en los transcriptomas de las cepas mutantes respecto a la cepa silvestre, que estarían involucrados en transporte transmembrana, metabolismo de carbohidratos, respuesta a estrés y carotenogénesis, entre otros procesos. El análisis de las regiones promotoras de algunos de dichos genes reveló la existencia de secuencias regulatorias similares a las reconocidas por reguladores que reclutan el complejo Cyc8-Tup1. Los resultados, permiten concluir que el complejo Cyc8-Tup1 en *X. dendrorhous* está involucrado en la regulación de distintos grupos de genes que participan en diversos procesos biológicos. Esto sería posible debido a la participación de reguladores de unión a DNA que reclutarían el complejo a los promotores de los distintos genes blanco.

FONDECYT 1140504 y Beca de Doctorado CONICYT 21110252

**CLP1-41****Especies de *Lactobacillus* presentes en saliva de un grupo de niños Chilenos con y sin experiencia de caries**

Jacqueline F<sup>1</sup>, Cortes A<sup>1</sup>, Lozano C<sup>1</sup>, Morales I<sup>1</sup>, Urzúa B<sup>1</sup>, Lefimil C<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Investigación en Ciencias Odontológicas (ICOD), Odontología, Universidad de Chile. (Sponsored by Claudia Andrea Lefimil Puente )

**Introducción:** *Lactobacillus* spp. se han considerado por décadas agentes etiológicos de la caries dental, siendo asociados sistemáticamente con la presencia y progresión de esta patología. En Chile no existen estudios sobre presencia de *Lactobacillus* en cavidad oral de niños. El objetivo de este estudio fue determinar las especies de *Lactobacillus* presentes en saliva de un grupo de niños chilenos de 7 a 11 años de edad, con y sin experiencia de caries. **Metodología:** El grupo de estudio lo conformaron 8 niños sin experiencia de caries y 10 con caries. A cada uno se tomó una muestra de saliva, las cuales fueron sembradas en placas de medio MRS, que permite aislar *Lactobacillus* spp. Se seleccionaron colonias al azar y se extrajo ADN genómico. Se amplificó por PCR un fragmento del gen rRNA 16S, con oligonucleótidos específicos para *Lactobacillus* spp. Los productos de PCR fueron secuenciados por Macrogen USA y las especies bacterianas fueron determinadas mediante el programa BLAST y la base de datos de rRNA del NCBI. La asociación de muestras se realizó con el Test exacto de Fisher. **Resultados:** En ambos grupos de niños se encontraron especies como *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. casei*/ *L. paracasei* y *L. gasseri*/ *L. johnsonii*. Además, en el grupo con experiencia de caries se aislaron *L. acetotolerans* y *L. salivarius*, encontrando que este último poseía una asociación estadísticamente significativa a esta condición ( $p=0,002$ ). Por otra parte, en el grupo sin caries se encontró *L. acidophilus*. La especie más abundante en el grupo sin caries fue *L. fermentum*, que presentó una asociación estadísticamente significativa ( $p=0,011$ ). **Conclusiones:** Las especies de *Lactobacillus* presentes en saliva de un grupo de niños chilenos de 7 a 11 años de edad con experiencia de caries difieren de las presentes en saliva de niños sin experiencia de caries. Proyecto U-Inicia Difarp 40/13, VID, Universidad de Chile.



**CLP1-42****Análisis bioinformático del sitio de unión a cobre de la chaperona bacteriana CusF**

**Cortez D N**<sup>1</sup>, Jerez C A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Sponsored by Carlos A. Jerez)

La chaperona periplasmática CusF de *E. coli* une cobre en su sitio conservado que contiene 1 histidina y 2 metioninas: H(X)<sub>11</sub>M<sub>1</sub>XM<sub>2</sub>. Sin embargo, en algunas especies como *A. ferrooxidans*, se han observado cambios en dichos aminoácidos posiblemente relacionados con la adaptación a su periplasma ácido, por lo que es de interés buscar esta u otras sustituciones de aminoácidos en esta proteína. Se analizó el sitio conservado de unión a cobre en todas las CusF anotadas en la base de datos de NCBI. Para ello, utilizando el recurso CDD (Conserved Domain Database) se buscaron todas las proteínas que presentan exclusivamente el dominio CusF, obteniéndose 3.416 proteínas de 320 géneros distintos. Con la ayuda de la herramienta Clustal Omega y el algoritmo de Needleman-Wunsch, se determinó la frecuencia de aminoácidos en cada posición del sitio de unión a cobre. Se determinaron los géneros bacterianos que presentaban cambios en los aminoácidos más conservados, analizando su posible efecto estructural en el sitio de unión al metal. Se encontró que sólo *Acidithiobacillus* presenta la sustitución de histidina por metionina. En otras especies, se encontró una sustitución de histidina por alanina o serina en esta posición. La metionina M<sub>1</sub>, se encontró 100% conservada, mientras que la M<sub>2</sub> presentó sustituciones por leucina o isoleucina en más de 10 géneros. Se discute que probablemente algunos de estos cambios podrían implicar pérdida del sitio de unión, y/o posiblemente una pérdida de su función. Será de interés determinar si efectivamente los posibles sitios de unión a cobre con estas sustituciones aminoacídicas unen este metal *in vitro*.

Financiado por proyecto FONDECYT 1150791

**CLP1-43****El factor de splicing SRSF7 (9G8) promueve la expresión del ARNm completo de VIH-1**

**Dellarossa A**<sup>1</sup>, Gothe M J<sup>1</sup>, Vuskovic D<sup>1</sup>, Soto-Rifo R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Programa de Virología, ICBM., Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La expresión génica del VIH-1 es un proceso complejo y altamente regulado que permite la síntesis de las 15 proteínas virales a partir de un transcrito único. Una vez que el genoma viral es retrotranscrito e integrado en un cromosoma celular, la ARN polimerasa II reconoce el promotor viral y transcribe una molécula de ARNm idéntica al genoma viral que se denomina ARNm completo. En etapas tempranas, el ARNm completo es reconocido por el splicesoma generando los transcritos con *splicing* total que codifican para Tat, Rev y Nef. Estos transcritos virales siguen las vías canónicas del metabolismo de los ARNm celulares, incluyendo el reclutamiento de factores de *splicing* como las proteínas SR, las que favorecen la exportación nuclear mediada por NXF1 y la traducción. En etapas posteriores se acumulan los transcritos con *splicing* parcial que codifican para Env, Vpu, Vif y Vpr, además del ARNm completo, sin *splicing*, que codifica para Gag y Gag-Pol. Al poseer intrones, estos transcritos no pueden ser exportados vía NXF1 y son retenidos y degradados en el núcleo a no ser que sean reconocidos por la proteína viral Rev. Rev une estos transcritos virales y favorece su salida del núcleo gracias a su asociación con el factor de exportación CRM1. Pese a no asociarse al splicesoma, estudios previos indican que diversos factores de *splicing* podrían regular la expresión del ARNm completo de VIH-1 y otros retrovirus. Nuestros resultados indican que el factor de *splicing* SRSF7 (9G8) regula de manera positiva y específica la expresión del ARNm completo de VIH-1. De manera interesante, observamos que este efecto es independiente de la presencia de la proteína viral Rev. Estos resultados demuestran que pese a no sufrir *splicing*, el factor de *splicing* 9G8 es reclutado selectivamente al ARNm completo de VIH-1 para favorecer la síntesis de Gag.

Fondecyt 1160176; DRI USA 2013-0005; Anillo ACT 1408

**CLP1-44****Modulación del potencial anticariogénico de la sacarosa con ácidos grasos en un modelo de caries.**

**Echeverría C<sup>1</sup>**, Díaz N<sup>1</sup>, Giacaman R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Unidad de Cariología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca.

**Marco Teórico:** La sacarosa es el hidrato de carbono fermentable más importante en el desarrollo de la caries. Por otra parte, los ácidos grasos insaturados han sido estudiados por su rol bacteriostático, al alterar el normal metabolismo de bacterias cariogénicas. Sin embargo, no está del todo claro qué ocurre cuando ambos nutrientes están juntos y son presentados a un biofilm cariogénico.

**Metodología:** Biofilms de *S. mutans* UA159 fueron formados sobre bloques de esmalte dental bovino cubiertos de saliva. Durante 5 días los biofilms fueron sometidos a combinaciones de sacarosa 10% con ácido oleico (AO) en concentraciones 100 mM, 10 mM y 1 mM, 3 veces al día por 5 minutos cada vez. Se utilizó sacarosa al 10% como control positivo de caries, NaCl 0,9% como control negativo y AO 100mM como control experimental. El medio de cultivo fue renovado dos veces al día, y se midió pH después de cada cambio. Los biofilms fueron separados de los bloques para luego analizar biomasa y desmineralización mediante el porcentaje de pérdida de microdureza superficial (%PDS). Los datos se analizaron mediante ANOVA y Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Resultados:** La acidogenicidad fue menor en aquellos biofilms tratados con sacarosa 10% + AO 100 Mm, seguido por las combinaciones con AO 10mM y AO 1 mM ( $p < 0,05$ ). Los bloques tratados con combinaciones de sacarosa 10% + AO 100 o 10 mM mostraron una desmineralización significativamente menor en comparación al control positivo ( $p < 0,05$ ). La biomasa obtenida de los biofilms tratados con AO 100 mM fue significativamente menor al control positivo ( $p > 0,05$ ).

**Conclusiones:** El ácido graso oleico parece disminuir la cariogenicidad de la sacarosa cuando ambos nutrientes están en conjunto de forma dosis dependiente.

**CLP1-45****Hemo oxigenasa-1 reduce la replicación viral y la enfermedad pulmonar causada por la infección del Virus Respiratorio Sincicial**

**Espinoza J<sup>1</sup>**, Vallejos O<sup>1</sup>, Salazar-Echegarai F<sup>1</sup>, Álvarez-Lobos M<sup>2</sup>, Kalergis A<sup>1,3,4</sup>, Bueno S<sup>1,5</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>2</sup>Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>3</sup>Endocrinología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>4</sup>UMR 1064, Nantes, Francia INSERM.<sup>5</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Sponsored by Susan Marcela Bueno Ramírez)

Human respiratory syncytial virus (hRSV) is the major cause of severe lower respiratory tract infections in children. The development of novel therapies and antiviral drugs against hRSV is extremely important to control the burden of disease in the susceptible young population. Here, we examined the effects of inducing the activity of the host enzyme heme oxygenase-1 (HO-1) as a possible antiviral strategy against hRSV infection. **Methods** A549 cells were infected with hRSV at MOI 1 in the presence or absence of CoPP (HO-1 inducer), SnPP (HO-1 inhibitor), or vehicle control for 24 h and then cells were analyzed for surface expression of hRSV F protein. For in vivo experiments, BALB/c mice were treated for 24 h with CoPP, SnPP or vehicle control and then intranasally inoculated with either mock or hRSV (1x10<sup>6</sup> PFU). hRSV disease progression was monitored by animal weight loss during 7 days. Mice were euthanized and BALF was analyzed for neutrophil infiltration by flow cytometry and lung homogenates of each experimental group of infected mice, were collected and quantified for viral copy number. The same methodology was performed in transgenic mice (tTA-HO-1) that overexpress human HO-1 in in MHC-II<sup>+</sup> cells. **Results** Our results show that after hRSV infection, HO-1 induction CoPP significantly reduced the loss of body weight due hRSV-induced disease. Further, HO-1 induction also decreased viral replication and lung inflammation, as evidenced by a significant reduction in neutrophil infiltration to the airways. Furthermore, similar antiviral and protective effects were observed by inducing the transgenic expression of human HO-1 in MHC-II<sup>+</sup> cells in mice. Finally, in vitro data suggest that HO-1 induction can reduce airway epithelial cell permissivity to the virus. **Conclusion** HO-1 induction could protect the host from the pulmonary pathology developed upon hRSV infection, by reducing viral replication and thus, favoring disease resolution.

Actualmente estoy postulando a los fondos entregados por Conicyt para la asistencia a congresos.

**CLP1-46****Aislamiento e identificación de candidatos probióticos a partir de *Helix aspersa* Müller con actividad inhibitoria contra *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus aureus*: Bacterias involucradas en acné vulgar**

**Espinoza-Monje M<sup>1</sup>**, García A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Apolinaria García Cancino)

**Marco teórico:** El acné vulgar es una enfermedad inflamatoria de la piel, asociada con el crecimiento excesivo de *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), en el folículo pilosebáceo. Actualmente el tratamiento consiste en el uso de retinoides tópicos y antibióticos, sin embargo, los altos niveles de resistencia y efectos secundarios causados por estos fármacos, se hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. **Metodología:** Las muestras se obtuvieron desde heces y secreción mucosa de *Helix aspersa* Müller (Caracol común de jardín), a partir de las cuales se aislaron colonias puras en medio agar MRS. A las cepas aisladas se les realizó una caracterización mediante técnicas microbiológicas y moleculares para la identificación de cepas pertenecientes al género *Lactobacillus*. Aquellas cepas que resultaron positivas para este género se les realizó ensayo de inhibición contra *P. acnes* (ATCC 6919), *S. aureus* (ATCC 25923) y cepas clínicas de *S. aureus*. Posteriormente se realizaron pruebas probióticas básicas, tales como producción de peróxido de hidrógeno, producción de ácido láctico e identificación de bacteriocinas. **Resultados:** Del total de cepas aisladas, 15 pertenecían al género *Lactobacillus*. De éstas el 87% presentó una fuerte inhibición contra *P. acnes* y el 47% una fuerte inhibición contra *S. aureus*. Con respecto a la capacidad de producción de peróxido de hidrógeno se obtuvo que el 67% de las cepas presentaban producción abundante, 7% producción regular y 13% producción escasa. Todas las cepas fueron productoras de ácido láctico, pero solo el 53% presentó una concentración de producción sobre los 1,500 g/L. Cinco de las cepas presentaron los genes que codifican para la bacteriocina abp118 $\alpha$ . **Conclusión:** En base a los resultados obtenidos se seleccionaron cinco cepas potencialmente probióticas y con actividad inhibitoria contra *P. acnes* y *S. aureus*, siendo estos buenos candidatos para el tratamiento preventivo del acné vulgar.

Beca Conicyt 2014 - 22140736

**CLP1-47****Análisis bioinformático del genoma de la cepa *Exiguobacterium Aurantiacum* PN47 resistente a metales pesados aislada desde el salar del Huasco, región de Tarapacá**

**Estay R<sup>1</sup>**, Vallejos C<sup>1</sup>, Strahsburger E<sup>2</sup>, Ponce R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat.<sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular. Programa Doctorado en Agronomía del Desierto y Zonas Áridas, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat.

La cepa *Exiguobacterium aurantiacum* PN47 fue aislada desde el sedimento del Salar del Huasco, reserva nacional situado a unos 176 km al este de la ciudad de Iquique, región de Tarapacá. Esta cepa PN47 bacilo Gram positivo no formadora de esporas pertenece a un género de bacterias adaptadas a sobrevivir en condiciones ambientales extremas. En el laboratorio se determinó que esta cepa es resistente a los metales pesados Arsénico y Sulfato de, con una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 5mM a Arsénico (III), y  $> 0,1$  mM de Sulfato de Zinc (II). Con el fin de establecer los mecanismos asociados a estas resistencias a metales pesados, el genoma de la cepa fue secuenciado mediante el método "illumina" y analizado mediante herramientas bioinformáticas. Este genoma de 2.886.173 pb que posee un 51% de GC se han identificado el posible operon *ArsRDA\_orf1866\_B* que codifican para un regulador transcripcional y sistemas de exportación. A diferencia de otros operones de resistencia a arsénico, en esta cepa el gen de la arsenato reductasa (*arsC*) y el gen de arsenito oxidasa (*aiob*) se ubica en otra posición dentro del genoma. Respecto de la resistencia a Zinc, esta cepa posee el posible operon ZurABC que se relacionan con la resistencia al Zinc. La identificación de estos genes permitirá establecer estrategias experimentales para determinar el mecanismo de resistencia a metales pesados.

Vicerrctoria Académica de la Universidad Arturo Prat, proyecto DE1549 y Vicerrectoria de Investigación, Innovación y Postgrado de la Universidad Arturo Prat, proyecto VRIP0220-15, VRIP0218-15

**CLP1-48****Detección de sitios oxidados en el RNA de *E. coli* expuesta a estrés oxidativo**

**Fernández G**<sup>1,2</sup>, Orellana O<sup>3</sup>, Katz A<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Ingeniería y Bioinformática, Ingeniería, Universidad de Talca.<sup>2</sup>Escuela de Ingeniería y Bioinformática, Facultad de Ingeniería, Universidad de Talca.<sup>3</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las bacterias se ven constantemente expuestas a condiciones estresantes como el estrés oxidativo. Esto requiere que las bacterias modulen la respuesta adaptativas que prevengan el daño sobre diversas moléculas. En ácidos nucleicos, la guanina es principal blanco de oxidación, formando principalmente ocho hidróxiguanina (8-OH-G) que puede hibridizar con similar afinidad a adenina y citosina. Esto puede inducir errores en la replicación (mutaciones G por T) o detener la traducción de un mRNA. Estudios previos muestran que tanto los rRNA como el resto del RNA se oxidan en *Escherichia coli*. Sin embargo, se desconoce que sitios del RNA se oxidan *in vivo*, lo que dificulta determinar los efectos que tiene sobre la fisiología bacteriana. En este contexto, se realizaron experimentos de *RIP (RNA immuno-precipitation) con anticuerpos contra 8-OH-G* y posterior secuenciación masiva del RNA obtenido de cultivos de *E. coli* en condición control y bajo estrés oxidativo. Utilizando el rRNA como control positivo se establecieron criterios para detectar sitios de oxidación. Esto permitió encontrar 130 potenciales sitios con un resolución de aproximadamente 20 nucleótidos. Análisis posteriores permitieron elegir 40 sitios que localizan en RNA codificantes y son de alta calidad. Mayoritariamente los sitios están en genes con función asociada al metabolismo central (síntesis de lípidos y uso de los carbohidratos) sugiriendo un posible papel para la oxidación del RNA en la regulación del metabolismo bajo estrés oxidativo. Actualmente se trabaja en métodos alternativos que permitan confirmar la oxidación de estos RNA en *E. coli* expuesta a estrés oxidativo.

Financiado por proyectos CONICYT de Inserción en la Academia 79130044 y FONDECYT Iniciación 11140222.



**CLP1-49****La expresión de los determinantes del largo de cadena del antígeno O es regulada por FNR y ArcA en *Salmonella* Enteritidis**

**Fernández P<sup>1</sup>**, Silva C A<sup>2,1</sup>, Velásquez F<sup>1</sup>, Amaya F<sup>1</sup>, Garcías H<sup>1</sup>, Santiviago C A<sup>1</sup>, Alvarez S A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Department of Molecular Biology & Microbiology Tufts University.

El lipopolisacárido (LPS) es el principal componente de la membrana externa de las bacterias Gram-negativo y cumple una función importante en la virulencia de *Salmonella*. Previamente, demostramos que el grado de polimerización del antígeno O (AgO) de *Salmonella* Enteritidis cultivada en medio mínimo E cambia en función de la disponibilidad de oxígeno, presentando sólo AgO de moda larga (L-AgO) en aerobiosis, mientras que en anaerobiosis se observa la presencia de AgO de moda muy larga (VL-AgO) y una concomitante disminución del L-AgO. La adaptación de *Salmonella* al pasar desde un ambiente aeróbico a uno anaeróbico requiere de cambios en la expresión de numerosos genes y los factores transcripcionales FNR y ArcA son los principales reguladores de este proceso. El objetivo de este trabajo fue determinar si FNR y ArcA participan en la modulación de la distribución de largos de cadena del AgO en respuesta a la disponibilidad de oxígeno y, consecuentemente, en la regulación de la expresión de los reguladores del largo de cadena,  $Wzz_{SE}$  y  $Wzz_{fepE}$ , en *S. Enteritidis*. Mediante electroforesis se determinó que la mutante  $\Delta arcA$  cultivada en condiciones aeróbicas o anaeróbicas es incapaz de producir VL-AgO, mientras que una mutante  $\Delta fnr$  produce esta moda en ambas condiciones. A su vez, la sobreexpresión de  $wzz_{fepE}$  permite la producción de VL-AgO en la cepa silvestre y en la mutante  $\Delta arcA$ , independiente de la disponibilidad de oxígeno. Estudios transcriptómicos realizados mediante qRT-PCR, demostraron que la expresión relativa de  $wzz_{fepE}$  aumenta en anaerobiosis, mientras que la de  $wzz_{SE}$  disminuye. Finalmente, mediante ensayos de cambio en la movilidad electroforética se determinó que FNR y ArcA son capaces de unirse a las regiones promotoras de los genes  $wzz_{SE}$  y  $wzz_{fepE}$ . En conclusión, nuestros resultados indican que la modulación dependiente de oxígeno de la distribución modal del AgO en *S. Enteritidis* es mediada por los reguladores ArcA y Fnr, los que regulan directamente la expresión de los genes que codifican las proteínas que determinan el largo de cadena del AgO,  $Wzz_{fepE}$  y  $Wzz_{SE}$ .

Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1130225 y 1140754, y por las becas CONICYT 21140692 y 22151395.

## CLP1-50

**Aspirina liberadora de óxido nítrico inhibe la morfogénesis y adhesión de aislados clínicos de *Candida Tropicalis***

**Fernandez-Soto R**<sup>1,2</sup>, Vargas Serrano M P<sup>1</sup>, Madariaga Venegas F<sup>1</sup>, Jara J A<sup>1</sup>, Fernández-Ramires R<sup>3</sup>, Urzúa B<sup>1</sup>, Molina-Berrios A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.<sup>3</sup>Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

**Introducción.** La estomatitis protésica se asocia a candidiasis oral y formación de biofilms. El agente etiológico más importante es *C. albicans*, sin embargo en los últimos años se han aislado *Candida no-albicans* como *C. tropicalis* cada vez con mayor frecuencia. La patogenicidad de las *Candidiasis* se asocia a prostaglandina E2 (PGE2) participando en diversos procesos, entre ellos la formación de formas filamentosas (pseudohifas) y biofilms. Fármacos liberadores de óxido nítrico y la inhibición de la síntesis de PGE2 con aspirina, inhiben procesos clave en la formación de biofilms. De acuerdo a estos antecedentes, proponemos que la aspirina liberadora de óxido nítrico (NO-ASA), mediante un doble mecanismo de acción podría afectar estos procesos, tales como morfogénesis y adhesión. **Objetivo.** Evaluar el efecto de NO-ASA sobre la susceptibilidad a antifúngicos, morfogénesis y adhesión de *C. tropicalis*. **Metodología.** Las cepas de *C. tropicalis* fueron aisladas de pacientes con estomatitis protésica. Para los ensayos de morfología, se realizaron cultivos estandarizados en RPMI-1640 (0,5 McFarland) expuestos a distintas concentraciones de NO-ASA o aspirina y se cuantificó el número de pseudohifas en relación al total de células (microscopía). Para los ensayos de adhesión, los cultivos fueron incubados en placas de 96 pocillos por 4h a 37°C en ausencia y en presencia de los fármacos. Las células adheridas fueron teñidas con cristal violeta y cuantificadas por espectrofotometría (590 nm). Los resultados se analizaron mediante ANOVA de dos vías. **Resultados.** NO-ASA inhibió la formación del tubo germinal en un rango de 20% a 90% y la adhesión en un rango de 90% y 60% en los aislados de *C. tropicalis*. Por otro lado, aspirina a las mismas concentraciones, tuvo un efecto menor sobre la adhesión pero fue capaz de inhibir de manera significativa la morfogénesis. **Conclusión.** Aunque NO-ASA no posee efecto antifúngico, inhibe la morfogénesis y la adhesión, proceso relacionado con la formación de biofilm.

Proyectos FONDECYT-11140227, U-Inicia 2014-82383, U-Redes-2014-007. Las cepas de *C. tropicalis* fueron cordialmente donadas por la Doctora Ximena Lee y la profesora Leyla Gómez de la Facultad de odontología de la Universidad de Chile.

**CLP1-51****Rol de los compuestos volátiles azufrados (VSCs) emitidos por *Pseudomonas* spp. en la biosíntesis de quantum dot (QDs) de CdS**

**Gallardo-Benavente C<sup>1</sup>**, Pérez-Donoso J M<sup>2</sup>, Quiroz Cortez A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Química Ecológica, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Bionanotechnology and Microbiology Lab, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by José Manuel Pérez Donso)

En los últimos años el interés de una nueva generación de nanopartículas semiconductoras fluorescentes o quantum dots (QDs) ha ido en aumento debido a su uso en aplicaciones de alto valor económico, tecnológico y biológico. La fabricación de estas partículas se lleva a cabo por métodos químicos de alto costo, resultando nanopartículas con alta toxicidad lo cual limita sus aplicaciones. Por ello, la biosíntesis de QDs la cual es producida principalmente por microorganismos como bacterias, surge como una metodología eco-amigable para la producción de nanoestructuras con propiedades novedosas. Algunas bacterias tienen la capacidad de producir QDs mediante la generación de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S). Sin embargo, existen otros compuestos volátiles azufrados (VSCs) que podrían estar implicados en la biosíntesis de los QDs y no han sido estudiados hasta la fecha. Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue "Evaluar el rol de los VSCs liberados por *Pseudomonas* spp. en la biosíntesis de QDs de CdS". Las bacterias fueron seleccionadas por el crecimiento bacteriano y biosíntesis de QDs de CdS bajo diferentes concentraciones de fuentes de azufre. La emisión VSCs se evaluó mediante el ensayo de detección de sulfuro con acetato de plomo y análisis SPME GC-MS. Los resultados muestran que todas las bacterias crecen en las diferentes fuentes de azufres y biosintetizan QDs de CdS. En relación a la emisión de VSCs, todas las cepas bacterianas liberan H<sub>2</sub>S en presencia de sulfuro y cisteína, mientras que sólo algunas lo hicieron a partir de sulfito como sustrato. No se observó liberación de H<sub>2</sub>S cuando sulfato, tiosulfato y metionina fueron utilizados. Los compuestos orgánicos volátiles de azufre emitidos por *Pseudomonas* sp. fueron identificados como metanotiol, dimetilsulfuro, tioacetato de S-metilo, dimetildisulfuro y dimetiltrisulfuro cuando se usó metionina como fuente de azufre. Estos compuestos se presentan como candidatos en la biosíntesis de QDs.

Beca CONICYT 21151066; FONDECYT 1141245

**CLP1-52****Análisis de levaduras asociadas a la fermentación artesanal de mezcal mediante métodos de cultivo dependientes e independientes**

Torres D<sup>1</sup>, Paez J<sup>1</sup>, Rojas J<sup>1</sup>, Godoy L<sup>2</sup>, Soto N<sup>1</sup>, Urtiz N<sup>1</sup>, Lopez J<sup>1</sup>, **Ganga M**<sup>2,3</sup>, <sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Durango, Instituto Tecnológico de Durango, Instituto Tecnológico de Durango. <sup>2</sup>Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile. <sup>3</sup>Millennium Nucleus for Fungal Integrative and Synthetic Biology (MN-FISB) 120043, Tecnológica, Universidad De Santiago De Chile. (Sponsored by María Angélica Ganga Muñoz)

Mezcal is the second most important alcoholic beverage in Mexico, and Durango has designation of origin for its production. Market growth demands better control of the process to ensure consistent quality, so it is essential to know the yeasts present during fermentation, primarily responsible for the sensory quality of the product. When analyzing complex microbial environments such as a spontaneous fermentation, dependent and independent molecular methods have advantages and disadvantages, so several authors recommend comparing both. The aim of this study was to detect and identify yeasts in mezcal artisanal fermentation at Durango state combining culture dependent (CDA) and independent (CIA) analysis. To achieve this, a sampling during a production process in Nombre de Dios, Durango was conducted. A representative isolation was performed using the Harrison discs technic with subsequent extraction of DNA from isolated yeasts and also from samples taken directly from the system. The CDA was performed by RFLP of amplified fragments using ITS1/ITS4 primers, CIA by DGGE of the amplified region using NL1/LS2 primers at previously reported conditions. Both analyzes indicate a similar species proportion and a sequence that matches with the observed in wines and other mezcal producing regions of the country, with *Saccharomyces cerevisiae* as the dominant specie towards the end of fermentation. The AD allowed to observe greater diversity, composed for at least 8 different species in the initial must and 3 in the residual must, mainly species encountered were *S. cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii*, *Pichia kluyvery* and *Kluyveromyces marxianus*; while the AI allowed to observe only four dominant yeasts bringing a general image of the evolution of the microbiota present in the system in a much smaller analysis time. Both analysis indicate that *S. cerevisie*, *T. delbrueckii* and *K. marxianus* are present during the whole process increasing in proportion, while other species reduce towards the fermentation. In conclusion, even though is less precise the AI by DGGE could be useful as a monitoring tool because it provides an overview of the yeasts present in the system in a shorter period of time than AD by RFLP.

Millennium Nucleus for Fungal Integrative and Synthetic Biology (MN-FISB) 120043.

CONICYT Postdoctorado/FONDECYT 3140083.

**CLP1-53****Estudio de la delección del gen *OFD1* en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous***

**Gárate C<sup>1</sup>**, Baeza M<sup>1</sup>, Cifuentes V<sup>1</sup>, Alcaíno J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En la levadura *Schizosaccharomyces pombe* se ha descrito un mecanismo de respuesta frente a hipoxia, donde participa el factor de transcripción Sre1, el cual interactúa con sitios SRE (*Sterol Regulatory Element*) en el DNA promoviendo la transcripción de genes relacionados con la síntesis de ergosterol, entre otros. En esta levadura, los niveles de Sre1 son doblemente regulados de manera oxígeno-dependiente: a nivel de su activación proteolítica para la liberación del dominio N-terminal que en el núcleo promueve la expresión de los genes blanco, y a nivel de la degradación de Sre1, donde la proteína Ofd1 acelera el proceso de degradación en presencia de oxígeno. La levadura *X. dendrorhous*, produce carotenoides y resultados experimentales sugieren que la síntesis de estos pigmentos es regulada por Sre1. Entonces se espera que mutaciones de *OFD1* en *X. dendrorhous* estabilicen a Sre1 y por lo tanto aumente la expresión de genes de la síntesis de esteroides y de carotenogénesis, favoreciendo la producción de ambos metabolitos.

Mediante análisis bioinformáticos del genoma y transcriptoma de la levadura se identificó un posible gen *OFD1* de 2,532 pb. Se realizó la delección de dicho gen en dos cepas de la levadura: CBS 6938 (silvestre) y CBS-*cyp61* (mutante que no produce ergosterol y sobre produce carotenoides), a través de la incorporación de un módulo que confiere resistencia a antibiótico en reemplazo del gen *OFD1* mediante recombinación homóloga. Sin embargo, no se observaron a simple vista cambios fenotípicos de pigmentación. Probablemente esto se deba a la doble regulación por oxígeno, por lo que la regulación a nivel de la activación proteolítica de Sre1 enmascara el efecto que tendría la delección de *OFD1*. Por este motivo, se está trabajando en realizar la delección de *OFD1* en una cepa de la levadura que carece de la primera regulación por oxígeno.

FONDECYT 1160202

**CLP1-54****El virus de la diarrea viral bovina es capaz de modular marcadores relacionados al desarrollo en células MDBK.**

**Garcés P<sup>1</sup>**, Villalba M<sup>1</sup>, Canales N<sup>1</sup>, Arriagada V<sup>1</sup>, Stepke C<sup>1</sup>, Maldonado N<sup>1</sup>, Olavarría V H<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) es una enfermedad que afecta al ganado bovino en todo el mundo, pudiendo provocar una gran variedad de cuadros clínicos que varían desde infecciones subclínicas hasta presentaciones más severas, incluyendo infertilidad, la enfermedad de la mucosa (MD), aborto y malformaciones congénitas. Estas últimas podrían generarse como consecuencia de la desregulación de vías metabólicas claves, por lo que en el presente estudio se evaluó su efecto sobre la vía Wnt canónica en células MDBK, la cual se ha visto implicada en diversos aspectos claves durante el desarrollo embrionario, tales como destinación celular, polaridad celular, determinación de patrones neurales, mantención de la pluripotencia y organogénesis.

Se analizó por medio de PCR en tiempo real los cambios de expresión de genes activadores de la vía Wnt canónica (ligandos Wnts), del efector B-catenina y de los genes blancos de esta vía en cinéticas de infección viral a distinta multiplicidad de infección. Se observó la activación de genes blancos tales como Cysteine-rich, angiogenic inducer 61 (Cy61) Runt-related transcription factor 2 (Runt) y Bone morphogenetic protein 4 (Bon4) a las 24hpi, por efecto de la infección viral. Además, por medio de Western blot e Inmunofluorescencia se determinó cambios en los niveles proteicos y distribución de B-catenina a las 2 y 4 hpi.

Los resultados obtenidos en el laboratorio nos llevan a concluir que si bien el virus es capaz de activar la vía Wnt canónica al aumentar los niveles citoplasmáticos del efector B-catenina, esta no es capaz de translocar al núcleo y actuar como co-factor transcripcional de los genes blancos de esta vía.

FONDEF IT15I10016



**CLP1-55****Incremento temprano en la expresión de las citoquinas IL-6, IP-10 e IL-10 en las infecciones graves por el virus de influenza A en humanos.**

**García T**<sup>1,2,3</sup>, Barrera A<sup>1</sup>, Le Corre N<sup>1,2</sup>, Angulo J<sup>2,3</sup>, Rathnasinghe R<sup>1</sup>, Dreyse J<sup>4</sup>, Núñez M<sup>1</sup>, Tapia K<sup>1,2</sup>, López-Lastra M<sup>2,3</sup>, Ferrés M<sup>1,2</sup>, Medina R<sup>1,2,3,5</sup>, <sup>1</sup>Laboratory of Molecular Virology, Escuela de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>2</sup>Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>3</sup>Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>4</sup>Departamento de Medicina Intensiva, Escuela de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>5</sup>Department of Medicine Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY 10029, USA.

Influenza A virus infections cause seasonal epidemics and occasional pandemics and remain a major cause of morbidity and mortality worldwide. Disease severity depend on virological and host factors, mainly extreme age, pregnancy, immunosuppression and a number of comorbidities; however, it is still unclear what specific molecular factors are at the basis of disease outcome in the general population. In the last 5 years, we have established a robust clinical protocol to recruit influenza patients, to conduct a comprehensive system analysis approach to gain information of host factors that affect clinical outcome. This has allowed us to address disease severity in the general population in Chile. We analyzed clinical metadata from 85 severe and 59 non-severe patients, evaluated the status of the innate and adaptive immune responses by measuring pro- and anti-inflammatory cytokines during the acute phase of infection (days 1-4) using a Multiplex ELISA, and determined seroconversion by hemagglutination inhibition assay at 21-28 days after infection. We also evaluated the immune genetic predisposition by evaluating single nucleotide polymorphisms (SNPs) by qRT-PCR of Interleukin 28B (*IL28B*; an antiviral cytokine) and the Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* ; a pro-inflammatory cytokine) genes, which expression level depends on the presence of SNPs rs12979860 (CT/TT/CC) - rs8099917 (TG/GG/TT) and rs1800629 (GA/GG/AA), respectively. The predominant comorbidities found were obesity (BMI>30), chronic cardiovascular diseases (including arterial hypertension) and immunocompromised conditions. Our current results show higher expression profile during the acute phase of the anti-inflammatory cytokine IL-10, the pro-inflammatory cytokine IL-6 and of the chemokine IP-10 in severe compare to the non-severe patients, meanwhile seroconversion and genetic predisposition did not appear to affect clinical outcome. These results expand our understanding of host factors contributing to the pathogenesis of influenza, which can have an impact on therapeutic and prophylactic interventions targeting those at higher risk severe disease.

Proyecto De Inserción Capital Humano En La Academia 79100014, FONDECYT 1121172, 1161791, and Proyecto Anillo PIA ACT 1408 all from CONICYT;and Program Iniciativa Científica Milenio from the Chilean Ministry of Economy, Development and Tourism grant P09/016-F.



**CLP1-56****Uso de *Saccharomyces cerevisiae* como modelo para el estudio de las proteínas efectoras de *Campylobacter jejuni*.**

**García V<sup>1</sup>**, Gutierrez S<sup>1</sup>, Guevara F<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Centro de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, CECTA -USACH, CECTA-Universidad de Santiago de Chile.

*Campylobacter jejuni* es uno de los principales agentes bacterianos causales de enfermedades transmitidas por los alimentos a nivel mundial. Sin embargo, la alta variabilidad genética de este microorganismo dificulta el estudio de los mecanismos de virulencia involucrados en la infección. Por otro lado, *Saccharomyces cerevisiae* es un atractivo modelo de célula eucarionte, siendo una de las ventajas la enorme disponibilidad de herramientas moleculares en este microorganismo. Uno de los más importantes factores de virulencias son las proteínas efectoras que corresponden proteínas que la bacteria inyecta directamente en el citoplasma de las células epiteliales produciendo cambios que favorecen la invasión de la bacteria. Así, en este trabajo utilizado el vector pYES-TOPO se estudian los mecanismos de acción de las proteínas efectoras de *C. jejuni* HtrA, CiaB y TssD.

Una de las estrategias utilizadas para este estudio fue evaluar los cambios transcripcionales en *S. cerevisiae* debido a la expresión de proteínas efectoras. Los resultados indican que la proteína TssD induce la expresión de un total de 98 genes relacionados principalmente con el transporte y mantención de las vacuolas. Así mismo la proteína efectora CiaB cambia la expresión de 18 genes los cuales se relacionan con estrés general, stress provocado por temperatura y condiciones abióticas. Por otro lado, HtrA cambia la expresión de 1408 genes involucrados en diversas rutas metabólicas, destacando rutas metabólicas de hidratos de carbono y aminoácidos. Además, la expresión de la proteína efectora HtrA disminuye la viabilidad de la levadura, por lo tanto, se seleccionaron 30 cepas mutantes en los genes responden transcripcionalmente a la proteína HtrA y se evaluó el nuevamente el efecto de la expresión de la proteína HtrA en estos mutantes, sin encontrar hasta el momento una respuesta diferente en la viabilidad de la levadura.

Fondecyt Iniciación 11130148

**CLP1-57****El rol del componente CBP80 del complejo nuclear de unión a cap en la expresión génica del mensajero completo de VIH-1**

**García-De F<sup>1</sup>**, Rojas-Araya B<sup>1</sup>, Pereira-Montecinos C<sup>1</sup>, Rojas-Fuentes C<sup>1</sup>, Soto-Rifo R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, ICBM, Medicina, Universidad de Chile.

In mammals, the nuclear cap-binding complex (CBC), composed of the CBP20/80 heterodimer, binds to the m<sup>7</sup>G cap structure of the RNA polymerase II (RNAPII) transcripts and plays critical roles during transcription, splicing, nuclear export, the pioneer round of translation and non sense-mediated decay. As a typical RNAPII-transcribed mRNA, the HIV-1 unspliced mRNA is capped and thus, is expected to recruit the CBC in the nucleus. However, and in contrast to the vast majority of cellular mRNAs, the HIV-1 unspliced mRNA retains its introns resulting in the inability to use the classical NXF1-mediated mRNA export pathway. Nevertheless, the viral protein Rev serves as an adaptor between the unspliced mRNA and the cellular export factor CRM1, thus allowing nuclear export of the viral mRNA through a non-canonical pathway. To date, its unknown whether the recruitment of the CBC to the unspliced mRNA cap impacts viral gene expression although it has been suggested that the CBC could be involved in mediating cap-dependent translation. Here, we show that overexpression of CBP80 but not CBP20 stimulates both cytoplasmic accumulation and translation of the HIV-1 unspliced mRNA. Interestingly, this role of CBP80 was independent of the CBP20-mediated cap binding activity of the CBC and more importantly, was dependent on the presence of the viral promoter and the Rev protein. We used molecular modeling to gain insights into the mechanism by which the viral protein Rev binds to CBP80 in the context of the CBC. Together, our data suggest that CBP80 is recruited to the HIV-1 unspliced mRNA ribonucleoprotein complex in a promoter and Rev-dependent manner in order to couple different steps of the HIV-1 gene expression pathway.

DRI USA 2013-0005

**CLP1-58****Análisis genómico global de dos plásmidos de *Acidithiobacillus ferrivorans* PQ33 de áreas mineras de Cerro de Pasco - Perú**

Eca Avila A, **García-De R**<sup>1</sup>, Fuentes Quispe A<sup>1</sup>, Mormontoy Quicaña C<sup>1</sup>, Aguirre Huamani M<sup>1</sup>, Ccorahua Santo R<sup>1</sup>, Guerra Bieberach G<sup>1</sup>, Bernaldo Agüero J<sup>1</sup>, Sánchez Venegas J<sup>1</sup>, De La Cruz Calvo F<sup>1</sup>, Sánchez Rojas T<sup>1</sup>, Ramírez Roca P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru. (Sponsored by Universidad Nacional Mayor de San Marcos)

*Acidithiobacillus* es una bacteria quimiolitotrófica que crece en ambientes ácidos y que usa el ion ferroso o los compuestos de azufre reducido como fuente de energía. Esta bacteria es útil principalmente en los procesos de biolixiviación de minerales debido a que puede oxidar sulfuros metálicos a sulfatos solubles en soluciones ácidas. Para mejorar la eficiencia de este proceso es importante que las cepas de *Acidithiobacillus* sean resistentes a metales. Se han aislado en otros países *At. ferrooxidans* portadoras de diversos tipos de plásmidos que codifican resistencia a metales. No hay reportes de plásmidos de *At. ferrivorans*. En el Perú, un país minero, no existen reportes al respecto, por lo que el principal objetivo del presente estudio fue caracterizar molecularmente, analizando la secuencia completa de los plásmidos de una cepa nativa de una zona minera de Cerro de Pasco de *Acidithiobacillus ferrivorans* PQ33 resistente a arsénico (III). Esta investigación reporta por primera vez la presencia de plásmidos en la especie *At. ferrivorans* y el análisis de la secuencia completa de los mismos. Se estudió la cepa PQ33, encontrando que portaba 2 plásmidos, uno de 10 y el otro de 12 Kpb, los cuales presentaban genes implicados en la conjugación, sistemas toxina-antitoxina, proteínas de replicación, reguladores de transcripción y postraducción, proteína de virulencia (VapD), además de dos proteínas: porina fosfato selectiva O y diguanilato ciclasa, implicadas en la resistencia a la falta de nutrientes y en la producción de biopelícula, respectivamente. Estas características en los plásmidos contribuyen con la capacidad de la bacteria para adherirse a sustratos y mantenerse en su hábitat. Los plásmidos de cepas nativas de *Acidithiobacillus* son un potencial recurso genético aún no explotado en nuestro país, los que al estar caracterizados, podrán ser usados para diversas aplicaciones biotecnológicas en la industria minera.

Proyecto 188-FINCYT-IB-2013, Proyecto VRI-UNMSM 151001241

## CLP1-59

**Detección del gen *dfrA15* en cepas chilenas de *Shigella sonnei* multirresistentes aisladas en el período 2010- 2011.**

**García C**<sup>1,2</sup>, Herмосilla G<sup>1</sup>, Ulloa M T<sup>1</sup>, Salazar J C<sup>1</sup>, Toro C S<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Microbiología Clínica Las Condes. (Sponsored by Cecilia Toro)

**Introducción:** Shigella es el agente causante de la shigelosis, cuyos síntomas se caracterizan por diarrea y/o disentería. El trimetoprim-sulfametoxazol (SXT) ha sido uno de los antimicrobianos utilizado en el tratamiento de esta infección, sin embargo, la resistencia a este antimicrobiano ha aumentado considerablemente en los últimos años en nuestro país (45-100% desde 1995 al 2009). Trimetoprim (TMP) inhibe la actividad de la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR). La resistencia a este antibiótico se genera principalmente por la adquisición de genes *dfr* que codifican una enzima DHFR resistente. En nuestro país, la resistencia a TMP en cepas de *S. sonnei* aisladas entre los años 1995 y 2009 se atribuye principalmente a la presencia de los genes *dfrA1*, *dfrA8* y *dfrA14*. **Objetivo:** Detectar la presencia de nuevos genes *dfr* en cepas de *S. sonnei* aisladas en 2010-2011. **Métodos:** Se secuenció el genoma de una cepa resistente a TMP, negativa para los genes descritos previamente. Se identificó el gen *dfrA15*, se diseñaron primers y se analizó mediante PCR un grupo de 80 cepas obtenidas de distintas regiones de Chile. Se determinó relación genética mediante PFGE. **Resultados:** Se detectó *dfrA15* en 26 de 62 cepas TMP<sup>R</sup> (42%). De éstas, todas presentaron un gen *dfr* adicional, 4 portaron la isla SRL y 20 el Integrón clase 2. El análisis de PFGE agrupó a 8 de las cepas *dfrA15-Int2* en un mismo "cluster", diferenciándolas de las cepas que portan la isla SRL. Esto sugiere que la multirresistencia a antibióticos en cepas de *S. sonnei* está determinada por la presencia de diferentes determinantes genéticos asociados a distintos elementos genéticos móviles. **Conclusión:** La presencia de distintos marcadores de resistencia a TMP permite detectar variantes de las cepas de *S. sonnei* en la población circulante en Chile.

FONDECYT 1130394

**CLP1-60****Efecto de la composición del medio de cultivo sobre la estructura del lipopolisacárido de *Helicobacter pylori***

**Garcias-Papayani H<sup>1</sup>**, Fernández P<sup>1</sup>, Santiviago C A<sup>1</sup>, Bravo D<sup>2</sup>, Álvarez S A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

*Helicobacter pylori* es un patógeno Gram negativo que coloniza el epitelio gástrico del humano, produciendo cuadros de gastritis, úlceras y, eventualmente, cáncer gástrico. Una característica de esta bacteria es que genera infecciones persistentes, que pueden mantenerse por décadas, lo que se ha relacionado con que la mitad de la población mundial se encuentra infectada por *H. pylori*. Una de los factores que favorecen la persistencia del patógeno es su inusual lipopolisacárido (LPS). Éste presenta modificaciones en su antígeno O (AgO), las que contribuyen al mimetismo molecular. Además el lípido A presenta una estructura se encuentra predominantemente modificada respecto a la molécula sintetizada *de novo*, lo que contribuye a su baja inmunorreactividad. A pesar que estas características han sido ampliamente descritas, los factores ambientales que regulan estas modificaciones no se han indagado en profundidad. En este estudio investigamos la influencia de factores ambientales vinculados con la virulencia del microorganismo sobre la distribución de largos de cadena del AgO (mediante SDS-PAGE) y la estructura del lípido A (mediante espectrometría de masas) del LPS de *H. pylori*. Los resultados mostraron que la distribución de largos de cadena del AgO de bacterias cultivadas a pH 5 es heterogénea, en cambio el AgO de bacterias cultivadas a pH 7 mostró un largo preferencial de cadena. En cultivos realizados en medio definido se observó que en presencia de suero la bacteria también produjo un AgO con un largo preferencial definido. En presencia de níquel el AgO presentó leves cambios en su distribución. Por otra parte, la especie completamente modificada del lípido A de *H. pylori* (estructura tetraacilada) resultó prácticamente indetectable en bacterias cultivadas a pH 5 en comparación con las cultivadas a pH 7. Además, a pH 5 fue posible observar otras especies no identificadas de esta molécula. Estos resultados sugieren que las condiciones ambientales tienen relevancia en la modulación de la estructura del LPS.

Proyectos FONDECYT 1130225 y 1140754. Beca Conicyt 21140692

**CLP1-61****Modulación por Prebióticos de las Interacciones Microbianas en un Consorcio Simple del Microbioma Intestinal Infantil**

**Garrido D<sup>1</sup>**, Ovalle A<sup>1</sup>, Pinto F<sup>1</sup>, Medina D A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ingeniería Química y Bioprocesos, Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La composición temprana del microbioma intestinal está influenciada por la dieta. Oligosacáridos de la leche o fórmula actúan como prebióticos, promueven el crecimiento de microbios intestinales beneficiosos. Los mecanismos implicados en la utilización de los prebióticos por estas bacterias se están empezando a conocer, sin embargo se desconoce cómo estos microbios responden y utilizan estos carbohidratos como un consorcio. En este trabajo evaluamos las interacciones de cuatro especies representativas del microbioma intestinal infantil durante el consumo de prebióticos infantiles. En primer lugar, optimizamos un medio de cultivo para representar mejor ciertas propiedades del colon infantil, como las proteínas parcialmente digeridas, sales biliares y mucina. Más tarde, un consorcio compuesto por *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bacteroides vulgatus*, *Escherichia coli* y *Lactobacillus acidophilus*, fue crecido en fructooligosacáridos (FOS) o 2'-fucosyllactose (2FL) en mono o cocultivo. Mientras *Bi. infantis* dominó el crecimiento en 2FL, esta especie y *Ba. vulgatus* dominaron la fermentación de FOS sobre *L. acidophilus*. Interesantemente, el crecimiento de *Bi. infantis* se redujo varias veces en FOS por *Ba. vulgatus*, afectando negativamente el consumo de sustrato y producción de ácidos. Coeficientes de interacción, estimados mediante la ecuación de Lotka-Volterra, fueron dependientes del sustrato e indicaron un predominio de competencia especialmente en FOS. Este estudio indica que carbohidratos de la dieta modulan las interacciones microbianas, que son en su mayoría de la competencia y alteran el consumo de sustrato y los perfiles de ácidos grasos de cadena corta.

Fondecyt de Iniciación 11130518, Fondecyt de Postdoctorado 3160525, VRI Interdisciplina UC 10/2013 y SeedFund COL 201603.

**CLP1-62****La atenuación de un gen que codifica una proteína transmembrana afecta el crecimiento, la resistencia a estrés osmótico y la producción de metabolitos secundarios en *Penicillium roqueforti*.**

**Gil-Durán C<sup>1</sup>**, Torrent-Farias C<sup>1</sup>, Medina E<sup>1</sup>, Vaca I<sup>2</sup>, Rojas-Aedo J F<sup>1</sup>, Garcia-Rico R O<sup>3</sup>, Chávez R<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Facultad de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Basicas, Universidad de Pamplona.

*Penicillium roqueforti* es un hongo filamentoso utilizado en la producción de quesos azules. Poco se conoce, sobre las vías de señalización que regulan procesos como la conidiación, crecimiento, germinación, y la respuesta a estrés. Sin embargo, se sabe que la subunidad alfa de una proteína G heterotrimérica ( $G\alpha$ ) regula estos procesos. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio demuestran que la proteína  $G\alpha$  influye en el crecimiento apical, la respuesta a estrés osmótico y la germinación de las esporas del hongo. Estas alteraciones podrían relacionarse con la expresión de genes río abajo de la proteína  $G\alpha$ . En particular, se observó que la actividad de  $G\alpha$  disminuye la expresión del gen *sfk1* ("suppressor of four kinase"). En levaduras, este gen codifica una proteína transmembrana que ayuda a la reorganización de actina y la integridad de la pared celular. Para explorar el papel de este gen en *P. roqueforti*, se realizó su atenuación mediante ARN de interferencia. Los resultados de esta atenuación en el hongo fueron un menor crecimiento apical, una menor resistencia a estrés osmótico, una disminución en la producción de metabolitos secundarios (roquefortina C, andrastina A y ácido micofenólico), así como una germinación conidial anticipada, comparado con la cepa nativa. Estos resultados sugieren en *P. roqueforti*, la proteína  $G\alpha$ , es un regulador negativo de *sfk1* y este a su vez regularía negativamente la germinación conidial, mientras que para el crecimiento apical, la producción de metabolitos secundarios y la respuesta a estrés osmótico, actuaría como un regulador positivo.

Proyecto FONDECYT 1120833 y DICYT-USACH. CGD y JFRA agradecen a beca CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/ 2014-63140056, CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2013-21130251 respectivamente



**CLP1-63****Caracterización del gen *STP1* codificante de una S2P (*Site-2 Protease*) de la vía SREBP de la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous***

**Gómez M<sup>1</sup>**, Sepúlveda D<sup>1</sup>, Cifuentes V<sup>1</sup>, Baeza M<sup>1</sup>, Alcaíno J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Sponsored by Jennifer Alcaíno Gorman)

*X. dendrorhous* es un basidiomicete que sintetiza astaxantina, carotenoide de interés biotecnológico por sus características antioxidantes y uso como colorante. En *X. dendrorhous*, los niveles de ergosterol estarían involucrados en la regulación de la expresión de algunos genes, en particular aquellos relacionados con la ruta del mevalonato (MVA) que genera los precursores de la síntesis de carotenoides y esteroides, probablemente a través de la vía SREBP (*Sterol Regulatory Element Binding Protein*). En la levadura se identificó al gen *STP1* que codificaría a la proteasa S2P involucrada en esta vía en *X. dendrorhous*. Por lo tanto, en este trabajo se estudió el efecto que tiene en la delección del gen *STP1* en la producción de isoprenoides. Para ello, se construyó un módulo de delección de dicho gen, se transformó la levadura y se comprobó la mutación en su genoma. Posteriormente, se analizó espectrofotométricamente la producción de carotenoides y esteroides, y se determinó su composición mediante RP-HPLC. Luego, se estudió la expresión de genes que estarían regulados por la vía SREBP a nivel de sus mRNAs mediante RT-qPCR. La delección de *STP1* afectó la producción y composición de isoprenoides, particularmente en la cepa CBS*cyp61* que no produce ergosterol y sobrepone carotenoides. Los carotenoides y esteroides disminuyeron en un 26% y 17%, respectivamente; y la fracción de astaxantina se redujo a un 70%. Esto se relaciona con una disminución significativa en los niveles de transcrito de los genes *HMGR* y *HMGs* de la ruta del MVA, *crtS* y *crtR* genes carotenogénicos que controlan los pasos de  $\beta$ -caroteno a astaxantina, y *CYP51* involucrado en la síntesis de esteroides. En conclusión, *STP1* codificaría a una proteasa y su delección afecta la producción y composición de isoprenoides como esteroides y carotenoides, lo que sugiere que *STP1* estaría involucrado en la vía SREBP de *X. dendrorhous*.

FONDECYT 1160202

**CLP1-64****Detención de genes de resistencia a antibióticos de uso veterinario en comunidades microbianas del canal Puyuhuapi, región de Aysén.**

**González-Muñoz P<sup>1,2</sup>**, Gutierrez M<sup>2</sup>, De Lima C<sup>2</sup>, Opazo-Capurro A<sup>2</sup>, Gonzalez-Rocha G<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Departamento de Oceanografía y COPAS Sur-Austral Universidad de Concepción. (Sponsored by Gerardo Gonzalez Rocha)

Chile es el segundo productor de salmones a nivel mundial, por lo que está expuesto a los costos ambientales de esta actividad, tales como eutrofización, uso y eventual liberación de antibióticos al medio marino. Durante el año 2015, la utilización de antibióticos en acuicultura, principalmente oxitetraciclina y florfenicol, fue de 557 tons. Estos compuestos al ser suministrados mediante *pellets* medicados y no ser ingeridos eficientemente por los peces, son liberados al ambiente acuático. En este escenario, se postula que la presión selectiva ejercida por estas drogas, podría modificar la estructura de las comunidades bacterianas acuáticas y favorecer la selección de genes de resistencia.

Se colectaron muestras de agua del canal Puyuhuapi durante julio de 2015 en cuatro sitios localizados a diferentes distancias desde un centro de cultivo de salmones y a profundidades entre 2 y 50 m. Se determinaron los cambios en la composición de la comunidad bacteriana mediante electroforesis en gel con gradiente denaturante de ADN ambiental y se pesquisaron genes de resistencia a oxitetraciclina y florfenicol mediante PCR convencional.

Los resultados evidenciaron la presencia de seis genes de resistencia a oxitetraciclina y florfenicol: *floR*, *tetO*, *tetC*, *otrA*, *otrB* y *tet34* en las veinte muestras de agua analizadas, sin observarse un patrón diferenciado entre los sitios ubicados a diferentes distancias del centro de cultivo. Adicionalmente, no se observaron mayores cambios en la estructura de la comunidad bacteriana a través del gradiente de influencia analizado.

Aunque aún no se dispone de mediciones de la concentración de antibióticos, considerando su relación con la presencia de genes de resistencia, además de la naturaleza semi-sintética de los antibióticos analizados, se sugiere que la selección de genes de resistencia es debido a la presencia de estos compuestos en el ambiente.

Esta investigación fue financiada por el proyecto FONDECYT 1131063 y por COPAS Sur-Austral (CONICYT PIA PFB31)

**CLP1-65****Efecto de la salinidad en la motilidad de mutantes de *Vibrio anguillarum* resistentes al fago CHOED**

**Gonzalez D<sup>1</sup>**, León M<sup>1</sup>, Bastias R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Sponsored by Carolina Yañez Prieto)

*Vibrio anguillarum*, es una bacteria marina Gram negativa capaz de causar vibriosis en más de 50 especies de peces. Uno de sus factores de virulencia más importantes es la motilidad otorgada por un flagelo polar que funciona con una fuerza Na<sup>+</sup> motriz, ya que le permite alcanzar a su hospedero. Se ha reportado que el uso de bacteriófagos puede ser una alternativa para controlar las infecciones producidas por esta bacteria, sin embargo, también se ha reportado que en presencia de fagos pueden proliferar bacterias resistentes a la infección. Por otro lado, existen reportes que sugieren que las bacterias resistentes a bacteriófagos pueden tener alteraciones en su motilidad. El objetivo de este trabajo es determinar si las cepas mutantes de *V. anguillarum* resistentes a bacteriófagos presentan alteraciones en su motilidad dependiente de Na<sup>+</sup>. Para esto se evaluó el crecimiento y motilidad de cepas de *V. anguillarum* resistentes al fago CHOED a distintas concentraciones de NaCl. Los resultados muestran que solamente una cepa (PF4-R4) presenta una disminución significativa del 40% en su motilidad en las concentraciones de NaCl analizadas (0.5%; 0.85%; 2.3%). Un análisis a través de microscopía y rastreo del movimiento celular demostró que esta cepa no presenta alteraciones en su velocidad de movimiento, pero si presenta una disminución en la fuerza producida por el flagelo ya que presenta una disminución del 30% en su motilidad en comparación a la cepa parental en medios con mayor viscosidad (0.25% y 0.5% glicerol). Estos resultados sugieren que la reducción en la motilidad en la cepa PF4-R4, se debe a una disminución en la fuerza que produce el flagelo, y que además la resistencia a bacteriófagos en *V. anguillarum* no necesariamente está asociada a una pérdida en la motilidad, ya que, algunas cepas resistentes no presentaron alteraciones en esta característica. Proyecto Fondecyt 11140412

**CLP1-66****Generación de células persistentes de *Clostridium difficile* frente al tratamiento antibiótico *in vitro***

**Álvarez R<sup>1</sup>**, Inostroza O<sup>1</sup>, Tejías C<sup>1</sup>, Díaz F<sup>1</sup>, Paredes-Sabja D<sup>2,1</sup>, Gil F<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Microbiota-Host Interactions and Clostridia Research Group, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Center for Bioinformatic and Integrative Biology, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

Una de las principales complicaciones de las infecciones por *Clostridium difficile* (ICD) es su alta tasa de recurrencia, alcanzando un 20, 40 y 50% en un primer, segundo y tercer episodio. Las esporas de *C. difficile*, impermeables a antibióticos y a la inmunidad del hospedero, juegan un papel esencial en ICD. Además, la alteración de la microbiota contribuye a la germinación de esporas y la colonización a través de mecanismos no totalmente dilucidados. Adicionalmente, existen mecanismos que estarían contribuyendo a un rápido crecimiento de *C. difficile* después del tratamiento antibiótico, y que podrían estar implicados en la dinámica de poblaciones de *C. difficile* para superar el efecto de los antibióticos y causar ICD o ICD recurrente. En este contexto, es posible que un cambio fenotípico asociado con la aparición de células de *C. difficile* persistentes, tolerantes a los antibióticos, proporcionaría una ventaja en el crecimiento en comparación a la microbiota después del tratamiento con antibióticos. En este estudio proponemos que frente al tratamiento con concentraciones letales de antibióticos se generan células persistentes de *C. difficile*. Primero se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) de una amplia gama de antibióticos que habitualmente producen disbiosis (cefalosporinas, fluoroquinolonas y clindamicina) y otros que son utilizados como tratamiento a ICD (metronidazol y vancomicina). La cepa *C. difficile* R20291 solo resultó sensible a metronidazol y vancomicina. De acuerdo a estos resultados, se realizó un ensayo de generación de persistentes en *C. difficile*. Brevemente, se creció en medio BHIS a 37°C O.N en anaerobiosis y se trató con una concentración de hasta 10 veces el MIC de cada antibiótico, se tomaron alícuotas a tiempo 6, 12 y 24 horas y se plaquearon en medio agar-BHIS. Las células tratadas se lavaron, se dejaron creciendo y al día siguiente se repitió el tratamiento. Luego se realizó el conteo de colonias. Con cefalexina, pefloxacino, clindamicina y vancomicina se indujo la generación de células persistentes *C. difficile in vitro*. Las persistentes se confirmaron por la determinación del MIC en el tiempo 24 horas, el cual fue igual al determinado inicialmente.

Fondecyt N° 1130074, Fondecyt N° 1151025, Beca Doctorado Nacional Conicyt

**CLP1-67****El virus de la necrosis pancreática infecciosa es internalizado en células CHSE/F (CHSE-214) por macropinocitosis**

**Levicán J<sup>1</sup>**, Miranda C<sup>1</sup>, Saldías J<sup>1</sup>, Gaggero A<sup>1</sup>, Leon O<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, Medicina, Universidad De Chile. (Sponsored by Oscar Enrique Leon Decap)

Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) is the etiological agent of infectious pancreatic necrosis in salmonid species, a disease causing high mortality rates and great economical impact in all salmon- farming countries. Although there are few reports of IPNV binding to different cells, the viral entry pathway remains unknown. The aim of this study was to determine the endocytic pathway involved in IPNV entry in fish cells CHSE/F (formerly CHSE-214). Based on biochemical and immunofluorescence assays, we show here that IPNV is internalized by macropinocytosis. The involvement of actin cytoskeleton, was studied using actin-depolymerizing agent cytochalasin D. This drug efficiently inhibited the uptake of soluble phase fluorescent tracer 70 kDa Dx-Texas red. In addition, this drug efficiently inhibited IPNV replication determined by immunofluorescence assay. These results indicate that functional actin dynamics are required for IPNV infection. In the same way, we demonstrated the inhibition of the fluid phase capture through the functional blockage of NHE-1 exchanger by EIPA, a hallmark of macropinocytosis. Significantly, this treatment decreases virus replication by 90%. When EIPA was added after infection, replication was not impaired indicating that its effect occurs at the entry step. These results indicate that the virus utilizes macropinocytosis to be internalized into host cells while blockage of the other endocytic pathways; clathrin and caveolae/lipid raft, using chlorpromazine or fillipin II respectively, had no effect and may not be involved in IPNV cell entry.

FONDECYT1151250. JL MECE(2) Educación Superior Fondo de Innovación UCH1107.

**CLP1-68****Alimentos asociados a serotipos de *Salmonella enterica* y *Listeria monocytogenes* aislados en la Región Metropolitana entre los años 2003-2015**

Hernández L<sup>2</sup>, Vidal M<sup>1</sup>, Retamal P<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Salud Pública Ambiental y Laboral SEREMI de Salud RM. <sup>2</sup>Medicina Preventiva, Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

*Salmonella enterica* y *Listeria monocytogenes* habitan diversos ambientes como el suelo, agua, heces de humanos y animales. Ambas bacterias corresponden a patógenos transmitidos por alimentos, llegando a causar brotes masivos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la relación entre serotipos de *S. enterica* y *L. monocytogenes* aislados en la Región Metropolitana entre los años 2003 y 2015 con sus respectivos alimentos de origen. Los datos de aislamientos y serotipos fueron obtenidos desde la SEREMI de Salud RM. Los alimentos de origen de los aislamientos se clasificaron en subgrupos de acuerdo al Reglamento Sanitario de los Alimentos. La asociación entre alimentos y serotipos, se determinó mediante el estadístico de  $\chi^2$ . El nivel de diversidad de alimentos por cada serotipo fue determinado a través del coeficiente de Gini. 304 aislados de *S. enterica* provenientes de 14 subgrupos de alimentos fueron caracterizados en 26 serotipos, siendo los más frecuentes: Enteritidis (27%), Typhimurium (17%), Heidelberg (5.2%) y Derby (4.6%). Los alimentos con mayor número de aislamientos fueron aquellos de origen animal (240/304), siendo el más representativo la carne cruda de pollo (79/240). Para *L. monocytogenes* 355 aislamientos obtenidos desde 12 subgrupos de alimentos, fueron caracterizados principalmente en 2 serotipos: I (56%) y IV (41%). Los alimentos desde donde se obtuvo el mayor número de aislamientos fueron de origen animal (294/355), siendo el más representativo la carne de cerdo (67/240). Tanto en el caso de *S. enterica* como de *L. monocytogenes*, hubo asociación entre serotipo y subgrupo de alimentos ( $p < 0.05$ ). Los serotipos de *Salmonella* con mayor diversidad de alimentos de origen fueron Typhimurium, Enteritidis y Heidelberg (Gini  $< 0.75$ ). Lo mismo se observó con los serotipos de *L. monocytogenes*. Se concluye que existe asociación entre el alimento de origen y el serotipo que se aísla de estos, y que existen distintos niveles de diversidad de alimentos entre serotipos.

Laboratorio de Salud pública Ambiental y Laboral. SEREMI de SALUD RM

**CLP1-69****Análisis de actividad antimicrobiana y presencia de dsRNAs en levaduras Antárticas**

**Socias G<sup>1</sup>**, Barahona S<sup>1</sup>, Alcaino J<sup>1</sup>, Cifuentes V<sup>1</sup>, Baeza M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Introducción: El continente antártico es el hábitat de una gran variedad de levaduras y otros microorganismos. En este tipo de ecosistemas "extremos" la competencia por recursos es alta, por lo cual las levaduras han desarrollado estrategias para superar a sus competidores, siendo la producción de antimicrobianos una de ellas. Las bases genéticas de este fenotipo son variables, pudiendo ser de origen nuclear o extracromosómico. Las levaduras "killer" son de utilidad en la industria de bebidas fermentadas, preservación de alimentos y medicina. En este trabajo se analizó la actividad "anti-levadura" y "anti-bacteriana" de diferentes especies de levaduras y se evaluó la presencia de moléculas de dsRNA extracromosómicas. Métodos: Se extrajo el RNA total desde pellets celulares y las muestras obtenidas fueron tratadas con nucleasa S1. La actividad antimicrobiana se determinó mediante la técnica MBA (methylene blue agar), usando extractos proteicos extracelulares obtenidos por precipitación con sulfato de amonio desde sobrenadantes de cultivos de las levaduras. Las muestras fueron analizadas por cromatografía de exclusión molecular y SDS-PAGE. Resultados: Se detectó la presencia de dsRNA en siete especies de levaduras. Mediante RT-PCR con partidores específicos y aleatorios se obtuvo la secuencia parcial de los dsRNAs de las levaduras *Mrakia psychrophila* y *Xanthophyllomyces dendrorhous* M13-3. En la comparación con la base de datos del NCBI (Blastx), se encontró un alto porcentaje de identidad con los totivirus L1A y L1B de *X. dendrorhous*. Las muestras proteicas de *Wickerhamomyces anomalus* y *Candida Parapsilosis* presentaron actividad contra las levaduras *Mrakia sp1* y *Glaciozyma antarctica*. Ambas muestras retuvieron su actividad después de una incubación a 100°C por 4 horas, y la actividad fue asociada a una proteína de un tamaño estimado de 50 kDa. Además, la levadura *C. parapsilosis* presentó actividad contra la bacteria *Klebsiella geyteca*, siendo la única levadura que presentó actividad bactericida.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1130333



## COMUNICACIONES LIBRES PANELES II

### CLP2-1

#### **La proteína hnRNP U es un factor *trans*-activador para el inicio de la traducción IRES dependiente en retrovirus.**

**Contreras N<sup>1</sup>**, Castillo E<sup>1</sup>, Lowy F<sup>1</sup>, López-Lastra M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Enfermedades infecciosas e Inmunología Pediátrica, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

The full length messenger RNA (mRNA) of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and Murine Mammary Tumor Virus (MMTV) harbors an internal ribosome entry site (IRES) within its 5' untranslated region (UTR). Previous studies suggested that these IRESs requires cellular proteins known as IRES *trans*-acting factors (ITAFs) to achieve full translation initiation activity. In this work, we identified and evaluated the Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein U (hnRNP U), a cellular RNA binding protein, as an ITAF for the HIV-1 IRES, HTLV-1 IRES and MMTV IRES. For the discovery of proteins associated to these retroviral IRESs, in this study we used the strategy of GRNA affinity chromatography coupled with mass spectrometry. From the identified cellular proteins, we then focused our attention on hnRNP U. Using bicistronic mRNAs we then assessed the potential role of hnRNP U as an ITAF for the IRESs of HIV-1, HTLV-1 and MMTV by performing knock-down and overexpression assays. Results show that hnRNP U is an ITAF for the HIV-1, HTLV-1 and MMTV IRESs.

Work Supported by FONDECYT 1130270, P09/016-F de la Iniciativa Científica Milenio del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. NC is a CONICYT Doctoral Fellow.

**CLP2-2****Caracterización de ChuS de la cepa probiótica *Eschericia coli* Nissle 1917, una enzima análoga a la Hemo Oxigenasa humana HO-1**

**Coronado-Arrázola I<sup>1</sup>**, Salazar-Echegarai F<sup>1</sup>, Pardo-Roa C<sup>1</sup>, Salazar G<sup>1</sup>, Bueno S<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Heme-oxygenase (HO) is an enzyme that catalyzes the metabolism of heme group, products derived from this reaction are biliverdin (BV), carbon monoxide (CO) and iron (Fe<sup>++</sup>). Many properties have been described for this enzyme such as anti-oxidant, anti-proliferative, anti-apoptotic and anti-inflammatory. Most of them are related with CO production which is able to attenuate immune response by reducing immunogenicity of dendritic cells (DC). Also, this molecule can stimulate the tolerance of autoreactive T cells. HO was initially associated with mammal cells (HO-1 in humans), but some studies have identified a bacterial heme-oxygenase. Some *E. coli* strains possess the *chuS* gene that encodes bacterial HO (ChuS) and it is codified into an operon that regulates the uptake of heme with the subsequent CO production. We performed an *in silico* analysis of a probiotic strain *E. coli* Nissle 1917 (EcN) and we found the presence of *chuS* and the complete operon at the coordinates 4018329 – 4027281 of its chromosome. For the whole study, we developed an EcN strain lacking *chuS* gene, an isogenic chromosomally complemented strain and a strain able to over express *chuS*. Our preliminary results showed that modifications performed on each of the strains did not alter their growth rate *in vitro* when compared to *wild type* strain. Additionally, we performed assays of *chuS* expression in presence of inducers and inhibitors. We suggest that the presence of *chuS* gene in EcN makes it a potential candidate for alternative therapies focused on ChuS action.

Beca Conicyt No. 63140215

Fondecyt 1140010

Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia

**CLP2-3****Potencial de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos bajo condiciones aerobias y anaerobias** (Potential Bioremediation of aliphatic hydrocarbon contaminated soils under aerobic and anaerobic conditions)

**Cumsille A**<sup>1</sup>, Orellana R.<sup>1</sup>, Cabrera P.<sup>1</sup>, Cáradenas F.<sup>1</sup>, Stuardo C<sup>1</sup>, González M.<sup>2</sup>, Seeger M<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt Universidad Técnica Federico Santa María.<sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental Universidad Técnica Federico Santa María.

La contaminación de suelos con hidrocarburos causa daños severos en el ecosistema por su toxicidad y persistencia, tanto en las zonas superficiales (aerobias), como en las zonas más profundas (anaerobias), ocasionando uno de los principales problemas medioambientales en países en desarrollo. Se puede utilizar diversas técnicas de biorremediación para acelerar el proceso natural de degradación de hidrocarburos. Estas incluyen la estimulación de los microorganismos nativos que son capaces de degradar los compuestos de interés (bioestimulación) o la adición de microorganismos externos que sean capaces de suplir dicha función (bioaumentación).

El presente trabajo tiene como objetivo determinar el potencial de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. Esto se llevó a cabo a través de la elaboración de microcosmos, los cuales fueron manejados tanto de forma aerobia como anaerobia, homologando las condiciones *in situ* del perfil de suelo. Los microcosmos aerobios consistieron en tratamientos de (i) bioestimulación con humus de lombriz (ABE) y (ii) bioaumentación con bacterias degradadoras de hidrocarburos, en conjunto con la adición constante de aire (AV). Previo al establecimiento de los microcosmos anaerobios, se determinó que el proceso aceptor de electrones predominante en los sedimentos corresponde a la reducción de sulfatos. Los microcosmos anaerobios consistieron en (i) bioestimulación con lactato (NOBEL) y (ii) acetato (NOBEA), dos de los dadores de electrones más comunes utilizados por bacterias sulfato reductoras. Diversos parámetros relevantes fueron monitoreados periódicamente (pH, humedad, hidrocarburos alifáticos totales y conteo de bacterias degradadoras de hidrocarburos) por un periodo total de 6 semanas. Los resultados obtenidos indican que en ambos tratamientos (aerobio y anaerobio) se produjo una disminución significativa de los hidrocarburos alifáticos presentes. En particular, los tratamiento ABE y NOBEA, fueron los que presentaron mayores tasas de remoción, sugiriendo que son los más adecuados para el diseño de estrategias de biorremediación *in situ*.

PIE>A UTFSM

**CLP2-4****Estudio de la cepa *Pseudomona Aeruginosa* JT3A aislado de suelo de la costa de Iquique y con resistencia a  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  como posible biosensor fluorescente ante metales pesados**

**Godoy T<sup>1</sup>**, Strahsburger E<sup>2</sup>, Espínola J<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular, Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat.<sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular, Programa de Doctorado en Agronomía del Desierto y Zonas Áridas, Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat.

Desde la rizósfera de la planta *Lampranthus spectabilis*, cultivada en el Campus Huayquique, se aislaron colonias crecidas en medio King B y con propiedades fluorescentes bajo luz UV. La colonia seleccionada fue identificada como *Pseudomona aeruginosa* mediante el análisis de la secuencia del gen 16S rRNA. Esta cepa denominada JT3A produce un pigmento fluorescente que es liberado al medio extracelular. Este pigmento fue aislado desde el sobrenadante del cultivo y purificado mediante cromatografía en fase reversa utilizando una columna Sep-pak C18. El pigmento mostró un espectro de absorbancia con un máximo a 402 nm y un perfil similar al descrito para pioverdina. Este resultado es consistente con la observación de que este pigmento es producido durante la falta de hierro y no es producido en presencia de  $\text{Fe}^{2+}$ . Además otro aspecto interesante en esta cepa fue su resistencia a  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$ , con una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 5mM para ambos, respectivamente. Esta resistencia no ha sido observada anteriormente en otras cepas de *Pseudomona aeruginosa*. En base a estos resultados, se está explorando la posibilidad de utilizar esta cepa como Biosensor para Cobre o Zinc.

Vicerrectoría académica de la Universidad Arturo Prat, proyecto DE1549 y vicerrectoría de investigación, innovación y postgrado de la Universidad Arturo Prat proyecto, VRIIP0220-15, VRIIP0218-15

**CLP2-5****Respuesta inmune local contra el metacestodo de *Echinococcus granulosus* presenta dos perfiles diferenciales relacionados con el desarrollo del parásito**

**Hidalgo C<sup>1</sup>**, Stoores C<sup>2</sup>, Jiménez M<sup>2</sup>, Correa F<sup>1</sup>, Strull K<sup>1</sup>, Paredes R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Escuela de Medicina Veterinaria, Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Rodolfo Paredes)

La hidatidosis es una enfermedad parasitaria zoonótica presente en Chile, que conlleva graves consecuencias para la salud de las personas y la producción agropecuaria. Esta enfermedad es causada por el metacestodo de *Echinococcus granulosus*, un platelminto que se caracteriza por el crecimiento de quistes en diferentes vísceras, siendo hígado y pulmón las más afectadas. Los quistes de *E. granulosus* se organizan en 3 capas: la capa germinal, compuesta por células del parásito, la capa laminar, una matriz extracelular secretada por el parásito para evadir la respuesta inmune y la capa adventicia, que corresponde al infiltrado inflamatorio por parte del hospedero. En cortes histológicos de quistes obtenidos desde hígado y pulmón de bovinos, caracterizamos el infiltrado celular que rodea al parásito y determinamos que existen dos tipos de respuestas excluyentes entre sí: quistes cuya capa adventicia está compuesta por un infiltrado linfoplasmocitario y otros donde se encuentra un infiltrado de macrófagos dispuestos en empalizada. En ambos casos, puede haber o no presencia de eosinófilos. Este tipo de infiltrado está asociado al grosor de la capa laminar, cuya disminución podría estar relacionado con la capacidad del parásito de seguir desarrollándose. Estos resultados resaltan la compleja relación que tiene *E. granulosus* con su hospedero y la modulación diferencial que puede haber sobre el sistema inmunológico de mamíferos.

FONDECYT #1161475

**CLP2-6****Regulación de la expresión del gen *yggF* usando un sistema inducible en *Salmonella***

**Hidalgo M<sup>1</sup>**, Villagra N<sup>1</sup>, Hidalgo A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Patogénesis Molecular y Antimicrobianos, Medicina, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Alejandro Hidalgo Cea)

El gen *yggF* codifica para una RNasa que procesa al rRNA pre-16S, siendo un gen esencial en *E. coli* y *S. Typhi*. También se ha descrito que podría actuar como un factor de anti-terminación Rho dependiente y que genes con alto contenido de secuencias tipo Shine-Dalgarno se traducirían de forma menos eficiente en mutantes *yggF*. Para determinar la función de *yggF* en virulencia, generamos una mutante *S. Typhimurium yggF<sup>TD</sup>* (donde TD indica tetraciclina [Tet] dependiente), mediante la inserción del casete de resistencia a Tet de manera que este regule la transcripción de *yggF* de forma dependiente de Tet. La mutante fue genotipificada y se confirmó la inserción del *cassette tetRA* en el gen *yggE* del operón *yggEF*. La mutante presentó defectos de crecimiento en ausencia de Tet pero no en su presencia. Para evaluar el nivel de dependencia a Tet, se realizó curvas de crecimiento, encontrándose que 0,01 µg/mL es suficiente para que la mutante crezca similar a la cepa silvestre. La expresión del gen *yggF* fue analizada en presencia de Tet en la cepa *S. Typhimurium yggF<sup>TD</sup>*. En condiciones de no inducción, la expresión de *yggF* en la mutante fue 20 veces menor que en la cepa silvestre. También se encontró que 0,01 µg/mL de Tet indujo la expresión de *yggF* 3 a 4 veces en la cepa *S. Typhimurium yggF<sup>TD</sup>*, mientras que 0,01 µg/mL de Clortetraciclina, un análogo de Tet, indujo la expresión de *yggF* unas 8 veces o 40% de la expresión de *yggF* en la cepa silvestre. Esta mutante en *S. Typhimurium* ofrece la oportunidad de explorar los efectos de suprimir la expresión de *yggF* respecto a la modulación de los genes regulados por Rho o que poseen alta densidad de secuencias tipo Shine-Dalgarno y sus efectos sobre la virulencia de *S. Typhimurium*

FONDECYT 11150588

**CLP2-7****Caracterización fenotípica y genotípica de una nueva cepa de *Pseudomonas mandelli* aislada desde la Antártida, súper-productora de alginato y multi-resistente a antibióticos**

**Higuera S<sup>1</sup>**, Vasquez-Ponce F<sup>1</sup>, Marshall-Gonzalez S<sup>1</sup>, Olivares-Pacheco J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. (Sponsored by Jorge Andrés Olivares Pacheco)

En los últimos años se ha destinado gran atención a los microorganismos antárticos, motivo por el cual el continente frío se ha convertido en una fuente invaluable de nuevas cepas psicrófilas y psicrotolerantes, distinguiéndose algunos representantes del género *Pseudomonas*, gamma-proteobacterias gram-negativas conocidas por su amplia distribución y versatilidad metabólica. La taxonomía dentro de *Pseudomonas* ha sufrido variados cambios, reasignándose la presencia de cepas dentro de diferentes grupos y subgrupos que difieren en su caracterización fenotípica y molecular. En el presente trabajo describimos taxonómica, molecular y fenotípicamente la cepa de *Pseudomonas* sp. 6A1 aislada desde sedimentos provenientes de la Isla Rey Jorge (Shetland del Sur), Antártida. Para ello hemos utilizado una aproximación molecular realizando un análisis del gen ARNr 16S y la técnica de *Multilocus Sequence Analysis* (MLSA). Adicionalmente se realizó una profunda caracterización fenotípica de 6A1 utilizando API 20NE y GN2 Biolog. Para complementar dichos resultados, se realizaron pruebas de susceptibilidad a diferentes antibióticos utilizando la técnica de E-Test® y la capacidad de 6A1 para producir alginato, componente importante en la biopelícula en el género *Pseudomonas*. Los resultados obtenidos a partir del análisis de secuencia del gen 16S y de MLSA, sugieren que estamos ante la presencia de una nueva cepa de la especie *Pseudomonas mandellii* (99,9%), una bacteria de origen ambiental multiresistente a antibióticos, con una ecuánime capacidad para sobreproducir alginato a bajas temperaturas y con algunas características fenotípicas diferentes a las reportadas para cepas de *P. Mandellii* ya descritas. Esta especie ha sido reportada en diferentes continentes, sumando a la Antártida en la experiencia actual. Estos antecedentes sugieren que probablemente estamos ante la presencia de una de las especies más ubicuas del género *Pseudomonas*, cuyas adaptaciones estructurales y funcionales lo convierten en una referencia con fascinante potencial biotecnológico, capaz de sobrevivir en ambientes tan hostiles como el continente antártico.

Proyectos de Investigación de la dirección de Investigación de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso



**CLP2-8****La inducción de la actividad de Hemo Oxigenasa-1 bloquea la replicación de virus herpes simple en células epiteliales**

**Ibañez F<sup>1</sup>**, Kalergis A<sup>1</sup>, Gonzalez P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Sponsored by Dra. Susan Bueno)

Heme oxygenase-1 (HO-1) is an inducible enzyme that responds to various stress stimuli, such as reactive oxygen species and cytokines. Additionally, HO-1 activity can be positively modulated by chemical compounds, such as cobalt protoporphyrin (Copp). HO-1 degrades iron-containing pro-oxidant heme into equimolar quantities of ferrous iron ( $Fe^{2+}$ ), carbon monoxide (CO) and biliverdin. Importantly, the products of HO-1 display numerous cytoprotective effects, such as anti-apoptotic and anti-oxidant properties, within others. Because virus replication often involves the modulation of stress-related processes within cells during their infectious cycle, assessing the role of HO-1 in virus infection and fitness has acquired considerable attention in the last years. Here we sought to assess the role of endogenous HO-1 activity over herpes simplex virus (HSV) infection. HSV are highly prevalent viruses in the human population with scarce treatment options and no available vaccines. By using HSV strains encoding the green fluorescent protein (GFP), we found that pharmacological induction of HO-1 activity with Copp decreased protein expression of HSV-encoded genes. Importantly, we observed that this was due to impaired viral capsid migration from the cell surface to the nucleus of inoculated cells. This result was supported by the finding that equivalent amounts of virus was internalized in Copp-treated and untreated cells, yet GFP-derived fluorescence associated to viral capsids did not accumulate at the periphery of nuclei in Copp-treated cells. Furthermore, we observed that the effects of Copp treatment could be recapitulated with a CO-releasing molecule (CORM2) added to the cell cultures, indicating that HO-1-derived CO is involved in HSV blockade of replication.

FONDECYT n° 1140011 (CONICYT), Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy (P09/016-F, Iniciativa Científico Milenio), Proyecto CRP-ICGEB 2762-011

**CLP2-9****Cambio en la comunidad bacteriana epífita de la diatomea *Nitzschia ovalis*, durante la formación de biopelícula primaria.**

**Infante C<sup>1</sup>**, Pérez V<sup>2</sup>, Castillo F<sup>1</sup>, Sayes J<sup>3</sup>, Guerrero F<sup>3</sup>, Contreras F<sup>3</sup>, Silva-Aciares F<sup>4</sup>, Riquelme C<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana-Centro de Bioinnovación, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta.<sup>2</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta.<sup>3</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana-Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.<sup>4</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta.

Las bacterias pueden estar asociadas fuerte o débilmente al fitoplancton, generando diversas interacciones en ambientes acuáticos. Los florecimientos algales crean en su entorno inmediato un ambiente denominado ficósfera, que presenta características particulares y distintas al entorno circundante. La ficósfera se caracteriza por la presencia de microorganismos cuyas actividades son diferentes a las presentes en el entorno más distante y varían dependiendo de si presentan hábitos de vida libre o si están asociados a la superficie del fitoplancton. Diversos investigadores han sugerido que la interacción alga-bacteria es especie-específica y que algunas bacterias podrían jugar una función importante en el control de las dinámicas fitoplanctónicas. La secuenciación del gen 16S rARN es una alternativa ampliamente utilizada como aproximación para analizar la diversidad microbiana. Con los datos de la secuencia del gen 16S rARN, es posible distinguir el 95% de los géneros y 97% de las especies, sin embargo, son pocos los estudios que se han enfocado a metagenomas asociados a microalgas. En este trabajo se analizó el cambio en la comunidad asociada y la de vida libre durante la formación de la biopelícula primaria. Para estimar la riqueza bacteriana asociada a los cultivos de *N. ovalis*, se realizó un análisis de rarefacción con las secuencias obtenidas por Illumina utilizando el software R. Tanto la comunidad bacteriana asociada a la microalga como la de vida libre se encuentran dominadas por Proteobacterias (entre 18% y 99%, dependiendo de la muestra analizada). El segundo phylum más abundante son los Bacteroidetes (entre 4% y 72%), seguido por Firmicutes y Cyanobacteria (menos del 2%). Este estudio permite una primera aproximación a la dinámica bacteriana asociada a la formación de la biopelícula de *N. ovalis*.

Fondef IDeA II Etapas 14I10072

**CLP2-10****MarT participa en la virulencia de *Salmonella* Typhimurium**

**Jerez S<sup>1</sup>**, Hidalgo A<sup>1</sup>, Villagra N<sup>1</sup>, Mora G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Patogénesis Molecular y Antimicrobianos, Medicina, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Guido Carlos Mora Longa)

*Salmonella enterica* serovar Typhimurium (STM) es considerado un patógeno generalista, ya que es capaz de infectar aves, ratones y humanos. En ratones, STM produce una enfermedad sistémica similar a la fiebre tifoidea producida en humanos por *Salmonella* Typhi. La adquisición de material genético por transferencia horizontal, ha jugado un rol fundamental en el proceso de virulencia de STM, ya que ha mejorado su *fitness* en los nichos que habita. Un ejemplo de estos segmentos genómicos adquiridos por STM es la Isla de Patogenicidad de *Salmonella* número 3 (SPI-3) que codifica - entre otros genes - para la adhesina intestinal MisL y el regulador transcripcional MarT. MisL es requerida para la colonización intestinal, tanto en aves como en ratones inoculados oralmente con STM. Por su parte, se ha reportado que MarT regula positivamente al gen *misL* por unión directa a su promotor. Además, análisis del transcriptoma de STM muestran que la expresión de *marT* incrementa 10 veces en bacterias al interior de macrófagos, reforzando la idea de que este gen está implicado en la regulación de un set de genes de virulencia en STM. El fenotipo *in vivo* de mutantes nulas de *marT* no ha sido estudiado y por esto el objetivo principal de este trabajo es evaluar la participación de *marT* en la virulencia de STM en ratones. Para esto, se infectaron ratones vía oral con las cepas STM silvestre y STM con *marT* *delecionado*. Seis días post-infección, se recolectaron el hígado y bazo para contar unidades formadoras de colonias. Nuestros resultados muestran que existe una mayor cantidad de bacterias recuperadas desde el hígado y bazo de ratones infectados con la cepa STM silvestre que desde ratones infectados con la cepa de STM con *marT* *delecionado*. De acuerdo a los resultados obtenidos, concluimos que *marT* cumple un rol determinante en la virulencia de STM.

FONDECYT 1151393

## CLP2-11

**Presencia de marcadores de virulencia en *Escherichia Coli* productoras del tipo Shiga (STEC) aislada desde distintos orígenes en Chile**

**Jiménez M F<sup>1</sup>**, Rivera D<sup>1</sup>, Antivero P<sup>1</sup>, Castro F<sup>1</sup>, Gallardo P<sup>1</sup>, Toro M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad De Chile. (Sponsored by Angélica Reyes Jara)

**Marco teórico:** *Escherichia coli* productora de toxina tipo Shiga (STEC) es de importancia mundial ya que causa brotes de diarrea, colitis hemorrágica y Síndrome Urémico Hemolítico. Las vías de transmisión de STEC en humanos es la ingestión de alimentos contaminados crudos o poco cocidos, consumo de agua contaminada, el contacto de persona a persona, y el contacto con fecas contaminadas. Existe escasa información de la distribución y características de STEC aisladas en Chile.

**Metodología:** Se comparó la presencia de marcadores de virulencia entre cepas de STEC aisladas en Chile desde carne molida (43), bovinos (74), aguas (2), alimentos (7), caso clínico (1) y una colección histórica de cepas de origen desconocido (11). Las 138 cepas recolectadas fueron confirmadas como STEC a través de PCR para *E. coli* y los genes *stx1* y *stx2*, y pruebas bioquímicas. Se investigó la presencia de los genes de virulencia intimina (*eae*) y hemolisina (*hlyA*) en los distintos aislados por PCR. Además, se investigó si las cepas estudiadas pertenecían a alguno de los serogrupos *Grandes Seis* y O157. **Resultados:** El 80% de las cepas estudiadas (110/138) posee el gen *stx2*, asociado a cuadros graves de la enfermedad. Sólo dos cepas fueron positivas a la presencia del gen *eae* (1.4%); ninguna de las cepas aisladas desde alimentos o bovinos contenía el gen. Un 32.6% (45/138) de las cepas fueron positivas para el factor de virulencia *hlyA*; de ellas, un 56% (25) provenían de heces bovinas y un 28% (13) desde carne molida. Identificamos dos cepas del serogrupo O157, dos O26 y una O111, todas del grupo de cepas históricas. La muestra clínica fue identificada como STEC O111. **Conclusión:** Cepas con potencial patógeno circulan en Chile, sin embargo, no se detectaron marcadores típicos de virulencia en STEC aisladas desde alimentos.

Proyecto FONDECYT 111 50 491

**CLP2-12****Evaluación de la respuesta de *Rhodobacter sp.* a estrés inducido por radiación UV mediante el gen *recA*: Altiplano chileno vs. Antártica**

**Kurte L**<sup>1,2</sup>, **Pérez V**<sup>1,2</sup>, **Dorador C**<sup>3,2</sup>, **Molina V**<sup>4</sup>, **Hengst M**<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Farmaceuticas, Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Universidad Católica del Norte. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería Universidad de Chile. <sup>3</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional Universidad de Antofagasta. <sup>4</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha.

El incremento de la radiación UV en la superficie terrestre es uno de los factores de estrés ambiental más importantes y puede afectar a los microorganismos, generando distintos efectos según el rango del espectro de radiación solar incidente. Las longitudes de ondas cortas de la radiación UV-B (280 a 315 nm) están entre las más perjudiciales para los organismos vivos, causando daño directo e indirecto en el ADN por la generación de dímeros de pirimidina. Los microorganismos han desarrollado diversos mecanismos para responder al estrés inducido por la radiación UV; entre ellos, una de las principales respuestas, es la reparación del ADN, mediante el mecanismo SOS regulado por la proteína RecA. En esta investigación se seleccionaron dos sitios de estudio que presentan alta radiación solar: Salar del Huasco ( $\geq 1800 \text{ W/m}^2$ ) y la Antártica la cual presenta un aumento de radiación UV-B debido a la depleción de la capa de ozono ( $\sim 0,43 \text{ W/cm}^2$ ); ambos considerados "laboratorios naturales extremos". Para ello, se realizaron ensayos de exposición a radiación UV en ambos sitios, con filtros selectivos y utilizando como modelo de estudio *Rhodobacter sp.* aislada desde el Salar del Huasco. Para determinar la respuesta de esta bacteria frente a la radiación UV, se realizaron ensayos de viabilidad por conteo de UFC y la cuantificación de la expresión del gen *recA* por qPCR. Los cultivos expuestos con tratamiento PA; es decir con bloqueo a la radiación UV-B, presentaron una mayor expresión del gen *recA* (PA X CT= 21,004 vs NEGRO (control) XCT= 21,56) comparado con los demás tratamientos (PAR y NATURAL). Los resultados de este trabajo contribuyen al conocimiento de los mecanismos de respuesta a estrés mediada por RecA inducido por RUV, en una bacteria aislada desde un ambiente extremo, evaluada en ambientes contrastantes.

Fondecyt N° 1100953, 1140179, 1140356, FB-0001, INACH ECA-52, ELAC/DCC-0178, ATI15-2-01

**CLP2-13****Evaluación de niveles de expresión de genes involucrados en patogenicidad de cepas de *Piscirickettsia Salmonis* en dos líneas celulares**

**Lagos F**<sup>1,3</sup>, Cartes C<sup>1</sup>, Hausmann D<sup>1,2,3</sup>, Figueroa J<sup>1,3</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral De Chile. <sup>2</sup>Ciencias Basicas, Ciencias, Universidad Santo Tomás. <sup>3</sup>INCAR Centro FONDAP: Interdisciplinary Center for Aquaculture Research.

*Piscirickettsia salmonis* es una bacteria Gram negativa, intracelular facultativa, agente etiológico de la Piscirickettsiosis, enfermedad que ocasiona altas mortalidades en especies de salmónidos, amenazando la sostenibilidad de la industria salmonera en Chile. Se ha descrito que *P. salmonis* es capaz de sobrevivir y replicar al interior de macrófagos de salmón del Atlántico (*Salmo salar*), no obstante los mecanismos usados por esta bacteria para sobrevivir, replicar y propagar en su hospedero aun no han sido descritos. Nuestro laboratorio posee un amplio cepario de esta bacteria, de las cuales hemos obtenido muchos datos útiles de estudio como las concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) frente a Oxitetraciclina y Florfenicol, número de islas de patogenicidad y otros genes de interés. Para integrar todo lo que se ha evaluado, se utilizaron 3 cepas de *P. salmonis*, la cepa tipo LF-89, la cepa con mayor resistencia a antibióticos IBM-023 y la cepa con mayor número de islas de patogenicidad IBM-040, y se realizaron cinéticas de infección en las líneas celulares SHK-1 y CHSE-214, para evaluar por RT-qPCR la expresión de los genes *bipA* (factor de virulencia), *clpB* (*heat shock protein*), *dotB* (complejo de secreción), *csrA* (factor de virulencia) y *tcf* (factor de virulencia). Además se midieron los niveles de proteínas por Western-blot de ClpB y BipA en ambas líneas celulares. Se observó que existe una diferencia significativa de expresión de estos genes para las cepas en estudio, con lo cual se puede llegar a una correlación entre patogenicidad, resistencia antibiótica y tipo celular hospedero. Esto, da base para entender que todos estos factores influyen no solo en el grado de patogenicidad de esta bacteria, sino que también en la forma en que interactúan las bacterias para infectar distintos tejidos, lo que explicaría la evolución que ha tenido la enfermedad en estos últimos años.

Proyectos FONDECYT 1130069 y FONDAP 15110027.

**CLP2-14****Advanced wastewater bioremediation in antarctic stations using an antarctic *Desmodesmus* sp. strain**

Lavin P<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad de Antofagasta.

For decades, microalgae have received a lot of attention because of inorganic carbon fixing capacity and the use of wastewater components, such as nutrients while producing biomass. On the other hand, disposal of wastewater often results in high nutrient loading into aquatic environments, which may lead to undesirable phytoplankton blooms. During the Antarctic summer, the human populations in Antarctic stations increase significantly, causing high stress on wastewater treatment systems. Usually, these systems are not designed for the removal of nutrients. Because of this, the use of algae isolated from Antarctic becomes an interesting alternative to supplement the wastewater treatment. Experiments with raw wastewater (pretreated) and synthetic wastewater were performed, simulating an effluent of a secondary treatment with and without disinfection. Wastewater trials were performed in one-liter reactors of methacrylate, agitated by injecting air. Samples were taken every two days for measuring total nitrogen, organic matter (COD) and phosphorus. Results of growth rate assay, using synthetic medium with different N:P ratios, revealed that higher values of growth rate was obtained on N:P (6:1) ratio that is similar to those found in urban wastewater. Preliminary results showed that the system is able to maintain an approximately constant pH for 15 days. The maximum removal efficiencies of nitrogen were observed in raw wastewater under uncontrolled conditions, reaching an elimination of 55% and 85% on day 8 and 13 respectively. For the same conditions, the removal of organic matter (measured as COD filtered) peaked at 87%. The results show that the inclusion of Antarctic algae in wastewaters treatments represent an opportunity to improve the quality of effluent and the possible valorization of them



**CLP2-15****Presencia y funcionalidad del sistema de quorum sensing LuxS y autoinductor-2 en *Lactobacillus casei***

**Lefimil C<sup>1</sup>**, Soto S<sup>1</sup>, Cortés A<sup>1</sup>, Lozano C<sup>1</sup>, Urzúa B<sup>1</sup>, Morales I<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

*Lactobacillus* spp. son microorganismos Gram positivo, fermentadores, acidogénicos y acidúricos, que habitan el tracto gastrointestinal y la cavidad oral. Algunas de sus especies son consideradas agentes etiológicos de la caries dental, relacionándose con la presencia y progresión de esta patología. Junto con otros microorganismos, *Lactobacillus* son capaces de formar una biopelícula sobre la superficie del diente, denominada biopelícula dental. En ésta, las diferentes especies bacterianas presentes interactúan entre sí, por ejemplo, por quorum sensing. En bacterias Gram positivo habitantes de la cavidad oral, se ha descrito el sistema de quorum sensing mediado por autoinductor 2 (AI-2), producido por la enzima LuxS, y su papel en el crecimiento, formación de biopelículas y resistencia a ácido de estos microorganismos. Sin embargo, en *Lactobacillus* existen pocos reportes al respecto. El objetivo de este estudio fue analizar la presencia y funcionalidad del sistema LuxS en *Lactobacillus casei*, donde no ha sido descrito anteriormente. Con este fin, se determinó la presencia del gen *luxS* mediante bioinformática, amplificación por PCR y secuenciación, encontrando alta similitud de secuencia con LuxS descrito en otras especies. Mediante RT-PCR se determinó que *luxS* se transcribe como parte de una unidad transcripcional de tres genes, generando un mRNA policistrónico. Se cuantificaron los niveles del mRNA mediante RT-PCR cuantitativo, en diferentes fases de la curva de crecimiento, no encontrándose diferencias significativas entre ellas. Por otra parte, se analizó los niveles de AI-2 en los cultivos, utilizando la cepa reportera *V. harveyi* BB170, determinando que *L. casei* produce AI-2 y que sus niveles cambian, dependiendo de la fase de crecimiento en que se encuentre la bacteria. Estos resultados indicarían que *L. casei* posee un sistema funcional de quorum sensing mediado por LuxS y AI-2, similar a lo descrito en otros microorganismos. Mayores investigaciones permitirán dilucidar cómo estos microorganismos se comunican entre sí mediante este sistema, así como su participación en la cascada de regulaciones que permiten la permanencia de *Lactobacillus* en la cavidad oral y en los sitios de caries.

Financiado por Fondecyt Nro 11150928.

**CLP2-16****Selección y caracterización de bacterias ácido lácticas con capacidad de degradar aminas biógenas presentes en vinos tintos chilenos Carménère** (Selection and characterization of lactic acid bacteria capable of degrading biogenic amines present in Chilean Carménère red wine)

**Garrido A<sup>1</sup>**, Henríquez K<sup>1</sup>, Aranda M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Farmacia, Universidad de Concepción.

En Chile, la fermentación maloláctica se lleva a cabo de forma espontánea por bacterias ácido lácticas autóctonas, no tipificadas, presentes en las uvas y en las barricas de roble utilizadas como fermentadores. Estas bacterias están implicadas en la transición de ácido málico a ácido láctico y en la producción de bases nitrogenadas orgánicas denominadas aminas biógenas. Las aminas ingeridas en altas concentraciones pueden inducir efectos indeseables en el organismo y además afectar negativamente las cualidades organolépticas del vino. El objetivo de este estudio es conocer la microflora que participa en la fermentación maloláctica espontánea en vino tinto chileno Carménère y su relación con la producción y degradación de aminas biógenas. Para ello, las bacterias ácido lácticas fueron aisladas desde barricas pertenecientes a la Viña Chillán usando dos medios de crecimiento, medio MLO y MRS. La identificación fenotípica de las colonias se realizó mediante observación macroscópica, tinción Gram y prueba de catalasa. La identificación genotípica se llevará a cabo utilizando los partidores *WLAB<sub>1</sub>* y *WLAB<sub>2</sub>* para la reacción de PCR y la diferenciación de las cepas a través de Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP). Se identificará el gen de la enzima histidina descarboxilasa, tiramina descarboxilasa y ornitina descarboxilasa por PCR-RT. Se detectará la capacidad de éstas bacterias para degradar aminas biógenas y producirlas en bajas concentraciones por cromatografía líquida de alta eficacia (UHPLC) con detección ultravioleta. Los resultados obtenidos indican que se aislaron 38 cepas desde el medio MLO, las que fueron tentativamente identificadas como bacterias ácido lácticas en base a sus características fenotípicas como: cocos agrupados, tinción Gram positiva y prueba de catalasa negativa. No se observó crecimiento bacteriano en medio MRS. Se utilizó HPTLC (cromatografía de capa fina de alto rendimiento) para determinar las cepas que lograron degradar aminas biógenas presentes en el medio. Los resultados arrojados muestran una baja degradación, lo cual se correspondería con la capacidad degradativa del género *Oenococcus*. Este estudio permitirá conocer el perfil microbiológico durante la fermentación maloláctica en vino tinto chileno Carménère y relacionar su participación con la producción y degradación de aminas biógenas.

Los autores quieren agradecer al Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT N°11150921) por su financiamiento y a la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción.

**CLP2-17****Variabilidad de las comunidades nitrificantes en aguas costeras superficiales del Pacífico Sur Oriental (~36° S)**

**LevipanHA**<sup>1,2</sup>, Molina V<sup>3</sup>, Anguita C<sup>1</sup>, Rain-Franco A<sup>4</sup>, Belmar L<sup>5</sup>, Fernández C<sup>6,4</sup>, <sup>1</sup>Centro de Investigación Marina Quintay (CIMARQ), Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>3</sup>Programa de Biodiversidad y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación. <sup>4</sup>Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad De Concepción. <sup>5</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana y Toxicología Ambiental, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>6</sup>Laboratoire d'Océanographie Microbienne (LOMIC), Observatoire Océanologique, F-66650, Banyuls/Mer, France, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06.

La zona fótica representa un 5.4 % del volumen del océano mundial y allí ocurren algunas de las reacciones microbianas biogeoquímicamente más importantes para los ecosistemas marinos, por ejemplo, la nitrificación quimiolitotrófica. Motivados por esto, evaluamos la variabilidad estacional (mensual) y diaria (entre las 8 am y 16 pm. cada dos horas) de los componentes microbianos potencialmente activos de la comunidad procariota en los primeros 5 m de profundidad frente a Chile central, a 18 millas náuticas de la costa. Además, estudiamos la relación entre los microorganismos nitrificantes y la radiación solar. Para esto usamos (i) pirosecuenciación del gen de ARNr 16S usando ADNc como templado, (ii) transcripción inversa y PCR cuantitativo (RT-qPCR) de genes marcadores para microorganismos nitrificantes y (iii) medidas de radiación solar. Los grupos nitrificantes evaluados fueron las arqueas oxidantes de amonio (AOA) generales y algunos de sus ecotipos (AOA-A, AOA-B y *Nitrosopumilus maritimus*) usando el gen de la enzima amonio monooxigenasa subunidad A (*amoA*), beta-proteobacterias oxidantes de amonio (beta-BOA) también vía gen *amoA*, y las bacterias oxidantes de nitrito (BON) tipo *Nitrospina* usando el gen del ARNr 16S. También se estudiaron los efectos de la radiación solar artificial (UVA-PAR y PAR) en los microorganismos nitrificantes mediante RT-qPCR. Todos los nitrificadores (excepto AOA-B) fueron detectados por RT-qPCR, mientras que el grupo AOA fue el único detectado por pirosecuenciación. En general, las actividades transcripcionales *in-situ* fueron variables durante el día, lo que estaría asociado a ciertos umbrales de radiación solar en invierno, aunque las cuentas transcripcionales para AOA y *Nitrospina* se relacionaron también con la oferta ambiental de sustratos. Además, sólo los transcritos de *N. maritimus* se correlacionaron significativamente y negativamente con la radiación solar medida en todo el periodo de estudio. Durante primavera-verano, los transcritos de *Nitrospina* disminuyeron a altas intensidades solares, y lo contrario se observó en el invierno con respecto a la radiación solar natural (*in-situ*) y artificial. En resumen, la nitrificación quimiolitotrófica en el área de estudio es realizada por una comunidad nitrificante que muestra una tolerancia variable a la radiación solar y la cual es diversa, sobre todo, durante el invierno.

Proyectos FONDECYT N° 1150891 y 1110824. Centro FONDAP-INCAR (CONICYT # 15110027). Becas CONICYT N° 24121239 y 21090032. Proyecto FONDECYT Postdoctoral N° 3150505

**CLP2-18****Virus respiratorio sincicial (VRS) es un virus que discrimina. Diferencias en polimorfismos de un nucleótido (SNPs) entre niños y niñas en la gravedad de la infección.**

Lizama L<sup>1</sup>, Ampuero S<sup>1</sup>, Luchsinger V<sup>1</sup>, Núñez F<sup>1</sup>, Silva D<sup>1</sup>, Aguilera X<sup>1</sup>, Toledo A<sup>1</sup>, Silva C<sup>1</sup>, Torres C<sup>1</sup>, Núñez A<sup>1</sup>, Ojeda R<sup>1</sup>, Larrañaga C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

VRS es el principal agente de bronquiolitis en lactantes. El 0,5% desarrolla una infección grave, la mayoría no presenta factores de riesgo conocidos. Se han planteado factores genéticos asociados a enfermedad grave por VRS; entre ellos los SNPs en genes de respuesta inmune. Nuestro objetivo fue evaluar la asociación de 26 SNPs con la gravedad de la primoinfección por VRS en lactantes chilenos y las diferencias genéticas entre niños y niñas.

Se obtuvieron muestras de aspirado nasofaríngeo y saliva o sangre de 407 lactantes menores de 6 meses con primoinfección por VRS (epidemias 2005-2015). Según la gravedad clínica de la infección se clasificaron en graves (95 niños y 70 niñas) y no graves (117 niños y 125 niñas). El diagnóstico de VRS se confirmó mediante transcripción inversa-PCR tiempo real y RVP Fast. Se genotipificaron SNPs en los genes: IL1RL1, IL13, SPD, IFNA13, TNFa, NOS2, NCF2, TLR4, TLR10, FCER1A, IL10, IL6, VDR, JUN, IFNA5, IL9, CXCL8, IL4, IL4Ra, CX3CR1 E IRF7 mediante PCR-High Resolution Melting. Análisis estadístico: Unphased ( $p < 0,05$ ).

Los genotipos: GA en IL1RL1-rs1921622, TC en SPD-rs721917, CC en IL13-rs20541, CT en IFNA13-rs643070 y CC en TNFa-rs1799724 fueron más frecuentes en pacientes graves. En cambio, los genotipos: CT en IL13-rs20541, CC en IFNA13-rs643070, CT en TNFa-rs1799724 y AA en IRF7-rs1131665 fueron más frecuentes en no graves.

Por otro lado, los genotipos que presentaron asociación a gravedad de la infección en niñas fueron: GA en IL1RL1-rs1921622; CT en IFNA13-rs643070 y TT en VDR-rs10735810 y en niños los genotipos: GA en IL1RL1-rs1921622, GG en IL6-rs1800795, CC en IL13-rs20541, CC y CT en TNFa-rs1799724 y TT en CXCL8-rs2227306.

Algunos genotipos asociados a gravedad son dependientes del género. Marcadores genéticos y otros factores como género permitirían una mejor discriminación de susceptibilidad al desarrollo de enfermedad grave por VRS. FONDEF CA13i10003

**CLP2-19*****Candida albicans* y *Streptococcus sanguinis*: ¿competencia o sinergismo en el biofilm dental?**

**Lozano C<sup>1</sup>**, Hernández F<sup>1</sup>, Lefimil C<sup>1</sup>, Urzúa B<sup>1</sup>, Morales I<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Odontología, Universidad de Chile.

**Introducción:** Las superficies dentarias humanas son colonizadas por comunidades microbiológicas en donde existen interacciones bacteria-bacteria y bacteria-levadura. Es necesario desvelar las interacciones biológicas entre levaduras tanto con microorganismos comensales (*Streptococcus sanguinis*) como con patobiontes (*Streptococcus mutans*), y así revelar la coexistencia entre estos microorganismos co-residentes en la cavidad oral. El objetivo es explorar si existe modulación de la viabilidad de *C. albicans* y/o *S. sanguinis* al someterlas a ensayos de co-cultivo y, además examinar si es afectada la sobrevivencia de la levadura frente a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, el factor de virulencia de *S. sanguinis*. **Metodología:** Se realizaron ensayos de competencia en medio THB líquido y sólido de *S. sanguinis* SK36 o *S. mutans* ATCC 25175 con *C. albicans* (ATCC 90029 o aislado clínico de sujeto con caries activas); se determinó pH y células viables (UFC/mL) para cada co-cultivo. Los ensayos se incubaron en microaerofilia a 37°C durante 48h con/sin agitación, respectivamente. A las dos cepas de levadura se les realizó un MIC test para determinar viabilidad celular frente a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Los datos fueron analizados de manera descriptiva, comparando medianas inter e intra grupo. **Resultados:** En medio sólido, la cepa de referencia de *C. albicans* produjo un leve halo inhibitorio sobre *S. sanguinis*. En medio líquido, *S. sanguinis* y ambas cepas de *C. albicans* aumentaron su crecimiento en co-cultivo, respecto de su crecimiento aislado. *S. mutans* aumenta con la cepa de referencia y disminuye con el aislado clínico. El pH del co-cultivo de Ca con Ss o Sm fue mayor al inicial. El MIC test determinó que 0,1mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es la concentración que disminuye a 30% la sobrevivencia de ambas cepas de Ca. **Conclusiones:** Se sugiere de forma preliminar que *S. sanguinis* no inhibe el crecimiento de *C. albicans*. Asimismo, ambos podrían contribuir en mantener un microambiente compatible con salud oral.

Programa de Ayuda de Viajes para el fortalecimiento de la investigación año 2016, Dirección de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

**CLP2-20****Detección de Cyclovirus en niños y adultos chilenos con enfermedad respiratoria aguda mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real**

**Luchsinger V**<sup>1</sup>, Torres E<sup>1</sup>, Prades Y<sup>1</sup>, Moreno C<sup>1</sup>, Benadof D<sup>2</sup>, Pizarro R<sup>3</sup>, Ruiz M<sup>4</sup>, Avendaño L F<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, de Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Lab. Hospital Roberto del Río.<sup>3</sup>Jefe Clínico Hospital Dr. L. Córdova.<sup>4</sup>Medicina Hospital Clínico U Chile.

Cyclovirus (CyCV) is a member of recently proposed genus of the family *Circoviridae*, which includes naked viruses with a small circular ssDNA detected in insects, birds and mammals. It was first detected in humans in 2010; it has been reported in 3-15% of sick children and 0.7% -33.3% in asymptomatics. The only published study of respiratory specimens (Phan et al. 2014) displayed CyCV detection in 3.3% of 120 nasopharyngeal aspirates of Chilean children with acute respiratory infections (ARI). Infection frequency in adults is unknown. **Methodology.** CyCV was studied in 208 respiratory specimens: 105 from hospitalized adults with community-acquired pneumonia (CAP) in the L. Cordova hospital between 2012 and 2014, and 103 from hospitalized infants with ARI in R. Río hospital during 2016. Total nucleic acids from samples were extracted by MasterPure kit (Epicenter®) and a fragment of rep protein gene of CyCV was amplified by real time polymerase chain reaction, using primers and probes designed by Beacon Designer 8.0® and the Kapa PROBE® kit in a RotorGene6000®. **Results.** CyCV was detected in 57/105 (54.3%) adults and 15/103 (14.6%) children ( $p < 0.001$ ). Median age and male ratio were similar between adults with or without CyCV: 67 and 69 years; range 20-89 and 21-87 years; 51% (29/57) and 52% (25/48), respectively ( $p > 0.05$ ). Male ratio also was similar between positive and negative children: 40% (6/15) vs 52% (46/88) ( $p > 0.05$ ). Twenty five amplicons of 150bp from adults were purified and sequenced. The identity of all of them was over 95% compared to the four previously identified CyCV Chilean strains **Conclusion.** This is the first report of CyCV in adults with ARI. Infection frequency was significantly higher in adults than children with ARI and both percentages were higher than previously published. Asymptomatic study is required to establish the pathogenic role of the virus.



**CLP2-21****Uso codogénico y adaptación al pool de tRNA de los genes regulados por sRNAs en *Escherichia coli*.**

**Maldonado J P<sup>1</sup>**, Avalos F<sup>2</sup>, Tello M<sup>2</sup>, Orellana O<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular Bacteriana, Instituto de Ciencia Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Los sRNA, que son RNA pequeños no codificantes, regulan la traducción mediante interacción con mRNA. Alrededor del 10% de los genes de *Escherichia coli* son regulados por sRNAs, controlando procesos de adaptación al stress, metabolismo e infección. Algunos de los sRNA se unen a la región codificante de los mRNA por lo que es factible suponer que existe una relación con algunas propiedades de la secuencia como el uso de codones y la adaptación al pool de tRNAs. Para analizar esta relación se recopiló la información disponible de interacciones sRNA-mRNA y sus correspondientes secuencias de *Escherichia coli* K12 MG1655 (*E. coli*) desde distintas bases de datos. La adaptación a la preferencia codogénica y al pool de tRNA se evaluó mediante métodos bioinformáticos (Codon Adaptation index (CAI) y el tRNA Adaptation Index (tAI)). Los resultados de interacción, los valores de CAI y tAI fueron integrados mediante en el programa cytoscape, permitiendo su visualización en forma de red. De los 108 sRNAs analizados, el 31% forma una red de interacción que involucra coregulación de un mRNA por más de un sRNA. Los mRNA blancos poseen una preferencia codogénica y una adaptación al pool de tRNAs intermedia. Nuestros resultados sugieren que la regulación por sRNA sólo afecta a los genes que utilizan condones de uso intermedio con una disponibilidad intermedia de tRNA. Se discutirá los alcances de estos hallazgos en el contexto global de la regulación de la traducción por las interacciones sRNA-mRNA en *E. coli*.

Proyecto Fondecyt 1150834 Dr. Omar Orellana



**CLP2-22****Análisis genéticos y fenotípicos de aislados silvestres de *Botrytis* asociados a la vegetación de la Región de Coquimbo**

**Marambio B**<sup>1,2</sup>, Olivares L<sup>1,2</sup>, Lagües Y<sup>1,2</sup>, Plaza V<sup>1,2</sup>, Castillo L<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena. <sup>2</sup>Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética Universidad de La Serena.

*Botrytis cinerea* es un hongo fitopatógeno que produce la enfermedad podedumbre gris en más de 200 tipos de plantas. En Chile se ha descrito que afecta principalmente a las hojas y/o frutos de frutillas, arándanos, tomates y uvas. Sin embargo existe poca evidencia de infección de *Botrytis* en plantas nativas a nivel nacional. El objetivo de este estudio fue caracterizar fenotípicamente y genotípicamente 11 cepas silvestres de *Botrytis* obtenidos de plantas nativas o endémicas de las localidades de Caleta de Hornos, Punta Teatinos, Quebrada de Talca y Parque Nacional Bosque de Fray Jorge. Los análisis genéticos de ITS y PCR-RFLP, confirman la presencia del género *Botrytis* en las cepas aisladas. Por otro lado, la amplificación de los transposones *Boty* y *Flipper* en los aislados de *Botrytis* mostraron la prevalencia del genotipo *Transposa* en todos los sitios de estudio. Los ensayos de resistencia a antifúngicos (Fludioxonil, Iprodione, Fenhexamid, Tebuconazole y Boscadil) señalan que la gran mayoría de las cepas son sensibles a estos. Además, los resultados en la formación de esclerocios y esporas mostraron diferencias significativas entre los aislados, sin embargo no se puede correlacionar con el grado de virulencia. Estos resultados indican que no existe asociación entre el genotipo (*Boty*, *Flipper*, *Vacuma*, *Transposa*) y la resistencia a antifúngicos y/o virulencia. En resumen los aislados de *Botrytis* presentan variación fenotípica y genotípica que podría explicar la capacidad de poder infectar a una amplia gama de vegetación

Núcleo Milenio Biología Fúngica Integrativa y Sintética NC120043

**CLP2-23****Diversidad microbiana y potencial funcional determinado por secuenciación Whole-Metagenome Shotgun de aguas termales en Lirima**

**Marchant F<sup>1</sup>**, Dorador C<sup>2</sup>, Hengst M<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto de Antofagasta, Universidad de Antofagasta.<sup>2</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana & Ecología Funcional, Instituto de Antofagasta, Universidad de Antofagasta.<sup>3</sup>Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte.

Las aguas termales son ecosistemas acuáticos de alta temperatura que se encuentran distribuidos en todo el mundo. Estos ecosistemas térmicos contienen una gran diversidad de microorganismos termófilos e hipertermófilos que producen una variedad de enzimas (lipasas, glicosidasas, peptidasas) y otras biomoléculas con propiedades antibióticas y anticáncer, que corresponden a estrategias para sobrevivir en ambientes extremos. La mayoría de estos microorganismos son difíciles de cultivar y solo el 1% es cultivable. Por lo tanto, estrategias de cultivo independiente mediante secuenciación de "Whole-Metagenome Shotgun" (WMS) permiten inferir su historia evolutiva, identificar nuevas especies y explorar vías metabólicas. Esta técnica ha ayudado a identificar las especies presentes y predecir las posibles aplicaciones biotecnológicas.

En este trabajo se determinó la diversidad y función de comunidades microbianas asociadas a tapetes en aguas termales cerca del Humedal de Lirima (19°51'24"S, 68°55'02"W; 4200 msnm), mediante secuenciación WMS por MiSeq-Illumina y analizado en MG-RAST. El metagenoma contiene un total de 4.855.536 secuencias de 426.788.909 pbs con 48 % G + C que pasaron el control de calidad. El análisis de la comunidad presentó 84,51% secuencias pertenecientes a Bacteria, 0,7% a Arquea, 0,55% a Eucarionte y 0,03% a Virus; el resto corresponden a secuencias sin asignar (14,16%), secuencias sin clasificar (0,044%) y otras secuencias (0,002%). Un total de 60 filos y 324 órdenes fueron identificados. Filo bacteriano dominante fueron Firmicutes (26,73%), Proteobacteria (21,28%) y Chlorobi (16,75%). En análisis funcional usando la base de datos Subsystem, 13,8% lecturas fueron asignados a carbohidratos, 8,8% estaban involucrados en procesos metabólicos y 2% pertenecían a respuestas de estrés.

Este es el primer trabajo sobre aproximación metagenómica en revelar la diversidad microbiana en aguas termales de Lirima. Este ecosistema mostró tener secuencias nuevas afiliadas a linajes sin clasificar y sin asignar, lo que sugiere una fuente potencial de nuevas especies microbianas y sus productos.

**Keywords:** Hot spring, Metagenome, Shotgun sequencing, MG-RAST, Microbial diversity.

Fondecyt 1100953, 1140356 y 1140179

**CLP2-24****Estudio de la formación de amiloides intracelulares de la microcina L492 y su efecto sobre la amiloidogénesis de la microcina E492.**

**Marin J<sup>1</sup>**, Marcoleta A<sup>1</sup>, Monasterio O<sup>1</sup>, Lagos R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Región Metropolitana, Ciencias, Universidad de Chile.

Tradicionalmente, la formación de amiloides ha sido vista como un fenómeno patológico que involucra la agregación de proteínas mal plegadas formando estructuras insolubles e inertes. Sin embargo, se ha reportado un número creciente de casos de amiloides funcionales, es decir, proteínas cuya agregación es controlada para desempeñar un rol biológico, las que son especialmente abundantes en microorganismos como hongos y bacterias. La evidencia sugiere que en el citoplasma coexistirían diversas proteínas amiloidogénicas que experimentan cambios de fase, aunque no está claro cómo esta riesgosa dinámica es mantenida en rangos no perjudiciales para la viabilidad celular. La microcina E492 (MccE492) es un péptido antimicrobiano secretado por *Klebsiella pneumoniae*, el cual forma fibras amiloides modulando así su actividad bactericida. En particular, hemos demostrado que la MccE492 forma inclusiones amiloides en el citoplasma de las células que la producen, posiblemente como un mecanismo de secuestro de especies tóxicas del péptido. Los genes necesarios para la producción de MccE492 activa se agrupan en un *cluster* que consta de genes para su modificación postraduccional y exportación, además de un posible factor que actuaría como nucleador de su polimerización amiloide. Recientemente, hemos descubierto que en dicho *cluster* se encuentra codificada una segunda microcina denominada L492, la cual también forma fibras amiloides *in vitro*. En el presente estudio se evaluó si la microcina L492 forma amiloides intracelulares y si es capaz de nuclear la formación de amiloides de microcina E492. Mediante microscopía confocal se observó que células que expresan la microcina L492, acumulan inclusiones de naturaleza amiloide. Por otra parte, se co-expresaron fusiones fluorescentes de microcina L492 y microcina E492 silvestre o de una mutante hiperamiloidogénica, observando que la microcina L492 es incapaz de inducir la polimerización de la E492 silvestre, pero que co-agrega con la mutante con mayor tendencia a la agregación.

Trabajo financiado por los proyectos Fondecyt Postdoctorado 3140496 y Fondecyt Regular 1140430.

**CLP2-25****Activación del factor transcripcional CREB y expresión de su gen blanco, neurotrofina BDNF, durante infección neuronal por virus herpes simplex tipo 1**

**Martin C**<sup>1</sup>, Leyton L<sup>2</sup>, Arancibia Y<sup>3</sup>, Caroca J<sup>2</sup>, Salazar P<sup>2</sup>, Concha M<sup>3</sup>, Otth C<sup>2,4</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Tecnología Médica, Sede Puerto Montt, Universidad Austral de Chile.<sup>2</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.<sup>3</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.<sup>4</sup>Centro Interdisciplinario de Estudios del Sistema Nervioso (CISNe), Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Universidad Austral de Chile)

El virus herpes simplex tipo 1 (VHS-1) es un patógeno ubicuo con una alta prevalencia a nivel mundial. Dado su tropismo neuronal, establece una infección persistente latente con frecuentes cuadros de reactivación, generalmente de carácter asintomático. Diversos estudios han detectado la presencia de VHS-1 a nivel de sistema nervioso central (SNC), localizado principalmente en regiones del cerebro asociadas a procesos cognitivos y memoria; razón por la cual, actualmente, el VHS-1 es considerado un factor de riesgo en el desarrollo de patologías neurológicas crónicas y neurodegenerativas - sobre todo relacionadas a envejecimiento - ya que repetidos ciclos de reactivación viral pueden generar daño neuronal progresivo. En este contexto, se desconoce si durante la interacción virus/neurona, VHS-1 es capaz de modular la actividad de factores de transcripción como CREB (*cAMP response element binding protein*), factor ampliamente vinculado a eventos de plasticidad y función neuronal. La activación de CREB favorece la expresión de neurotrofinas como BDNF (*brain derived neurotropic factor*), cuyo principal rol es promover la supervivencia celular. Sin embargo, la activación persistente de CREB (fosforilación en residuo de serina 133) - durante estrés crónico - puede gatillar una prolongada expresión de BDNF; alterando el propio mecanismo regulatorio de este factor, y por ende, su efecto neuroprotector. Mediante estudios de RT-qPCR e inmunofluorescencia indirecta, observamos un incremento en la expresión de los niveles de ARNm de CREB y BDNF en células neuronales infectadas con VHS-1 (4 horas post infección; hpi); así como un incremento en la inmunoreactividad y cambios en el patrón de distribución de CREB fosforilado (p-CREB) y BDNF desde las 8 hpi, respecto a células sin infectar (mock). Nuestros hallazgos, sugieren que durante infección neuronal por VHS-1 se desencadenan eventos de señalización intracelular que propician la activación de CREB, pudiendo incidir en los niveles de expresión y distribución subcelular de BDNF, factor de gran importancia en los mecanismos de protección neuronal frente a eventos de estrés celular.

FONDECYT 1150574 y DID-UACH

**CLP2-26****Cepas vínicas chilenas de *Saccharomyces cerevisiae* presentan diferencias en sus requerimientos nitrogenados**

Kessi-Pérez E<sup>1</sup>, Romero I<sup>1</sup>, Guillamón J M<sup>2</sup>, **Martínez C<sup>3</sup>**, <sup>1</sup>Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile.<sup>2</sup>Departamento de Biotecnología de Alimentos Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Valencia, España.<sup>3</sup>Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CECTA) Universidad de Santiago de Chile. (Sponsored by Claudio Martínez)

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la principal especie responsable de la fermentación alcohólica en la transformación del mosto de uva en vino, siendo uno de los principales problemas la deficiencia de fuentes de nitrógeno en el mosto, la cual puede llevar a enlentecimientos y/o paradas de fermentación. Un gran reto consiste en identificar las bases moleculares que determinan la variabilidad observada en los requerimientos nitrogenados entre cepas vínicas de *S. cerevisiae*. Como primer paso para aquello, se evaluaron diferencias fenotípicas en parámetros asociados al crecimiento entre 28 cepas aisladas de distintas zonas vitivinícolas de Chile mediante fermentaciones en microcultivo, utilizando mosto sintético con distintas concentraciones de fuentes de nitrógeno (entre 5 y 300 mg/L), observándose que efectivamente existen diferencias entre ellas. Tras esto, se eligieron 2 cepas (L254 y L530) que presentan similares velocidades máximas de crecimiento a altas concentraciones de nitrógeno, pero disímiles a bajas concentraciones del mismo, con las cuales se realizaron fermentaciones en mayor volumen (12 mL) utilizando mostos sintéticos con 60 y 300 mg/L de nitrógeno; las cinéticas de fermentación mostraron el mismo comportamiento previo, en el cual la cepa L530 es más eficiente a bajas concentraciones de nitrógeno. La evaluación de este comportamiento mediante análisis de competencia en cultivo continuo en mosto sintético permitirá utilizarlas como cepas parentales para detectar las bases moleculares que determinan las diferencias de requerimientos nitrogenados entre ellas mediante un análisis de comparación genómica en masa de segregantes.

**CLP2-27****Detección de *Ureaplasma urealyticum* en muestras de orina de segundo chorro de hombres y mujeres con sintomatología compatible con ITU de la ciudad de Iquique, Chile**

Cifuentes E<sup>1</sup>, Medina C<sup>2</sup>, Olivares N<sup>2</sup>, Celis R<sup>2</sup>, Naranjo X<sup>2</sup>, Cortes I<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Tecnología Médica, de Salud, Universidad Santo Tomás. <sup>2</sup>Tecnología Médica, de la salud, Universidad Santo Tomás. (Sponsored by Ivania Loreto Cortes Cortes)

De acuerdo a American Sexual Health Association *Ureaplasma urealyticum* es una especie bacteriana que se relaciona con infecciones del tracto urinario (ITU), específicamente con uretritis no gonocócica tanto en hombres como en mujeres en edad sexual activa. El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia del microorganismo en muestras de orina de segundo chorro de hombres y mujeres de la ciudad de Iquique que presentan sintomatología compatible con una infección del tracto urinario. Para esto se realizó un análisis bioquímico mediante el kit microbiológico Mycoplasma IES utilizado para screening de *Ureaplasma urealyticum* el cual se basa en la reacción del cultivo y bioquímica donde la urea puede ser descompuesta por la ureasa del *U. urealyticum* y liberar NH<sub>3</sub> provocando un aumento del pH del medio líquido generando un viraje de color el cual indica un resultado positivo, luego se efectuó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con el fin de detectar la presencia del gen de la ureasa (480pb) característico de *U. urealyticum*, por medio de dos tipos de extracción de ADN (Técnica c Cloroformo-Fenol-Alcohol Isoamílico y kit de extracción GeneJet DNA) y se finalizó con 3 electroforesis. Dentro de los resultados obtenidos se logró detectar una banda de 480 pares de bases correspondiente al gen de la ureasa, en cuanto a los resultados generados por el kit la misma muestra (n°3) en la que se visualizó la banda en cuestión se presentaron los parámetros indicados por el proveedor como correctos para la validación del resultado positivo (Positivo UU, C+, UU ≥ 104; Resistente a Clindamicina, OFL y Ciprofloxacino). A partir de los resultados se puede concluir que la muestra de orina de segunda micción es viable para la detección del patógeno tanto por medio del kit microbiológico como por la técnica de amplificación en cadena de ADN PCR.

**CLP2-28****Efecto de diferentes aproximaciones para tratar la obesidad sobre la microbiota intestinal de pacientes Chilenos estudiado mediante la secuenciación del gen 16S rRNA**

**Medina D A**<sup>1</sup>, Pedreros J P<sup>1</sup>, Turiel D<sup>2</sup>, Quezada N<sup>2</sup>, Pimentel F<sup>2</sup>, Escalona A<sup>3</sup>, Garrido D<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ingeniería Química y Bioprocesos, Ingeniería, Pontificia Universidad Católica De Chile.<sup>2</sup>Cirugía Digestiva, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>3</sup>Cirugía, Medicina, Universidad de Los Andes.

Human gut microbiota is a complex community of microorganism that plays an important role in health. Several studies have implicated obesity with microbiota composition shifts (Ley et al., 2005; Turnbaugh et al., 2006; Walters et al., 2014). Bariatric surgery represents a treatment that enables substantial weight loss in cases of severe obesity (Eldar et al., 2011). This kind of treatments modified the gut microbiota composition (Liou et al., 2013; Zhang et al., 2009), suggesting that weight reduction and composition of the intestinal microbiota are related. In this work, the composition on the intestinal microbiota after three kinds of treatments for obesity were analysed (sleeve gastrectomy, gastric bypass and dietary treatment). All groups were treated in the same period and evaluated before treatment and after 6 months, which includes samples of blood, stool and anthropometric evaluation. The microbiota composition was evaluated from faecal DNA samples at 0 and 6 months using 16s rRNA MiSeq gene sequencing. The change in composition of each treatment was correlated with anthropometric and clinical parameters, showing significant correlation between weight changes and bacterial variation. Moreover, the change in microbiota composition was different for each type of treatment, suggesting different kinds of interactions between dietary host metabolism and gut microbiota according the treatment.

This research was funded by Proyecto Interdisciplina VRI 2010-2013 # 13288, Fondecyt Iniciación 1130518 and Fondecyt Postdoctorado 3160525.



**CLP2-29****Predicción de transferencia horizontal de genes a gran escala**

**Melis F**<sup>1,2</sup>, **Vera-Wolf P**<sup>1,2</sup>, **Marchandon G**<sup>1,2</sup>, **Ugalde J**<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo. <sup>2</sup>Programa de Genómica Microbiana, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo.

La transferencia horizontal de genes (THG) fue observada por primera vez en 1928 por Frederick Griffith. Este logró demostrar que los factores de virulencia son capaces de transmitirse desde cepas virulentas a no virulentas de *Streptococcus pneumoniae*. Logrando demostrar que la información genética puede ser transmitida de manera horizontal entre organismos bacterianos. La predicción de este tipo de eventos es de gran importancia por el rol principal que juegan en la evolución y adaptación de organismos tanto en Bacterias y Arqueas, e incluso en Eucariontes. Actualmente existen dos grandes métodos de predicción de THG que pueden ser clasificados en, paramétricos y no-paramétricos. Los primeros buscan secciones del genoma que difieran de manera considerable del promedio genómico en una especie en particular. Los otros métodos, examinan la historia evolutiva de los genes, identificando filogenias discordantes con la historia evolutiva de la especie. En muchos casos, la limitante de estos métodos pueden ser la incapacidad de detectar eventos lejanos o la complejidad en de los análisis. Pocas aproximaciones han utilizado bases de datos masivas para realizar predicciones, NCBI por ejemplo, lo que permitiría hacer predicciones para miles de especies bacterianas. En el presente trabajo se utilizó el software Darkhorse un algoritmo que combina un método de selección basado en probabilidades y ponderado según filogenia con una capacidad para filtrar búsquedas utilizando parámetros filogenéticos y de conservación de proteínas. Se realizó una búsqueda masiva, utilizando 29.777 genomas bacterianos obtenidos desde Ensembl y la base de datos de proteínas NR de NCBI, de Noviembre del 2015. Se realizaron búsquedas tipo Blast, utilizando Diamond y los resultados fueron analizados utilizando DarkHorse. Para evaluar los resultados, se visualizaron las predicciones para cepas de *Shigella*. El algoritmo de DarkHorse permite la revisión de grandes set de genomas microbianos de manera práctica y automática a una gran escala.

FONDECYT 11140666

**CLP2-30****Efecto del suministro de *Lactobacillus fermentum* UCO-979C sobre la microbiota del estómago de Gerbos de Mongolia (*Meriones unguiculatus*)**

**Merino J**<sup>1</sup>, García Cancino A<sup>1</sup>, González Correa C<sup>1</sup>, Pastene Navarrete E<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.<sup>2</sup>Departamento de Farmacognosia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. (Sponsored by Apolinaria Del Rosario García Cancino)

**Resumen**

Los probióticos son microorganismos vivos no patógenos, que administrados en cantidades adecuadas, confieren efectos benéficos a la salud del hospedador. Múltiples experimentos *in vitro* e *in vivo*, han dado a conocer efectos positivos de su administración en el balance de la microbiota normal, promoción de la integridad y movilidad intestinal, lo que resulta en la inhibición de bacterias patógenas y aumento de la resistencia a infecciones. Sin embargo, existe poca información acerca de la interacción/respuesta que se genera entre la microbiota residente y la aplicación de un microorganismo foráneo, en este caso, un probiótico. En este trabajo se evaluó el efecto de *Lactobacillus fermentum* UCO-979C sobre poblaciones microbianas residentes del estómago de Gerbos de Mongolia mediante electroforesis en gel de gradiente desnaturizante (DGGE). Se administró la cepa probiótica a 3 animales durante 2 semanas, mientras que otros 3 animales se sacrificaron y se determinó su microbiota residente. Muestras gástricas de hasta 30 mg de antro, cuerpo y fundus fueron sometidos a extracción de ADN, amplificación por PCR convencional y por PCR anidado. La diversidad y abundancia bacteriana se determinó utilizando análisis de DGGE de la región V3 de los productos de PCR anidado ARNr 16S de (~ 200 pb). Los resultados indican cambios en patrón de bandas lo que se traduce en cambios bacterianos poblacionales (OTUS) entre la microbiota residente y los tratados con cepa probiótica. La comparación de las 3 porciones del estómago (antro, cuerpo y fundus) reveló bandeos similares intra grupo pero distintas entre grupos, indicando la presencia de poblaciones bacterianas compartidas a lo largo del estómago, que a la vez se ven afectadas similarmente. Por lo tanto, estos resultados sugieren que la cepa probiótica *Lactobacillus fermentum* UCO-979c modifica la microbiota residente en Gerbos de Mongolia. La naturaleza de la modificación está siendo analizada por secuenciación de bandas.

Esta investigación forma parte del proyecto innova línea 2 14IDL2-29744. Además financia Beca Conicyt magister nacional 2016-22161166.

**CLP2-31****Patrones de distribución de la composición microbiana en un humedal salino de gran altura en el altiplano chileno: Co-ocurrencia de taxones, y relación taxa – área.**

**Miranda González N<sup>1</sup>**, Ávalos Ovando V<sup>2</sup>, Dorador Ortíz C<sup>2</sup>, Molina V<sup>3</sup>, Hengst M<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biotecnología Universidad de Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio Complejidad Microbiana y Ecología Funcional Universidad de Antofagasta. <sup>3</sup>Departamento de Biología Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación. <sup>4</sup>EMA Universidad Católica del Norte.

El altiplano alberga una gran diversidad de ambientes acuáticos, incluyendo humedales de gran altitud del altiplano chileno, considerando ecosistemas acuáticos remotos únicos situados en más de 4000 msnm, siendo además parte de la biosfera fría. Condiciones ambientales hostiles; incluyendo niveles extremadamente altos de radiación solar (1000 W / m<sup>2</sup>), un amplio rango de temperatura y salinidad variables producen hábitats únicos que representan laboratorios naturales para los estudios de la ecología microbiana. El Salar de Huasco se encuentra a 3800 msnm y es considerado como un hot-spot de biodiversidad. Esta investigación busca el determinar la composición de la comunidad bacteriana total en cuerpos de agua y tapetes microbianos de Salar de Huasco a través del uso de secuenciación masiva (Illumina) del gen 16S rRNA de ADN. Se busca describir esta comunidad en una escala espacial tanto de grupos abundantes como miembros de su biosfera rara (<0,1 % de la abundancia relativa total) en muestras de agua (3) y tapetes microbianos (10) de tres sitios del Salar de Huasco. Las secuencias fueron analizadas usando el software mothur y se clasificaron a través de SILVAngs. Se muestra la presencia de 46 phyla en bacterias, y se logra evidenciar sus patrones de distribución de esta taxa, relictas a sus sitios, así como taxa compartida en todas las muestras. De igual forma, se busca el determinar la co-ocurrencia de taxa en los sitios de estudio, Este estudio representa una de las primeras aproximaciones de la composición bacteriana general en miembros abundantes y raros para un ambiente 'athalahasohalino': Definiendo patrones de su diversidad en una escala espacial en tres sitios de estudio ubicados en el Salar de Huasco (considerando factores bióticos y condiciones físico-químicas) y evidenciando su co-ocurrencia de taxa para un ambiente poliextremo del Altiplano Chileno.

Fondecyt N° 1140179

**CLP2-32****Extracción de antioxidantes a partir de bagazo de tomate utilizando hongos polifenol oxidasa positivos en fermentación en sustrato sólido, seguida de extracción hidroalcohólica**

Arancibia-Díaz A<sup>1</sup>, Ramírez Apablaza A<sup>1</sup>, González Machuca P<sup>1</sup>, Pizarro-Torres C<sup>1</sup>, **Molina A M<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Laboratorio de Ingeniería Civil en Biotecnología, Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad San Sebastián. (Sponsored by Eduardo Agosin Trumper)

El bagazo de tomate (BT) es el residuo de la planta que queda tras la cosecha del fruto. Actualmente, este residuo no tiene otro destino más que la incineración, pues es difícilmente compostable por contener compuestos antimicrobianos. Sin embargo, el BT es una atractiva fuente de antioxidantes polifenólicos aún subexplotada. Por ello, se aislaron hongos polifenoloxidasas positivos presentes en el BT, para ser utilizados como parte de un consorcio microbiano para la extracción de antioxidantes polifenólicos a partir de esta materia prima mediante una fermentación en sustrato sólido (FSS) seguida de extracción hidroalcohólica. Los hongos fueron aislados en cultivo en placas con medio mineral Czapek con agar al 2% p/v y 0,1% de rifampicina, inoculadas con 1 g del BT e incubadas por 15 días a 28°C. Los hongos aislados se sometieron al test de Bavendamm para determinar cualitativamente la presencia de enzimas polifenoloxidasas. Luego de cuantificar el crecimiento radial de los hongos seleccionados en placas de agar potato dextrosa con 0,1% de penicilina, a 28°C y por 15 días, se crecieron en cultivos líquidos para inocular la FSS. Finalmente, se realizó FSS del BT con estos aislados, a 28°C por 15 y 30 días, en 2 condiciones de humidificación (200 ml/día y 20 ml/día). Los antioxidantes liberados mediante FSS fueron extraídos por extracción hidroalcohólica, y su concentración comparada con la extracción directa desde BT, sin FSS. Los tres aislados fúngicos capaces de utilizar BT como única fuente de carbono y energía, resultaron polifenoloxidasas positivos. La extracción de antioxidantes aumentó en un 45% promedio en comparación con la extracción hidroalcohólica directa, debido a la inoculación de estos aislados en FSS.

Agradecimientos a la Dirección General de Investigación de la Universidad San Sebastián que apoya este trabajo mediante el financiamiento del proyecto DIUSS N° 2015-0016-I

**CLP2-33****Efecto de la inactivación de genes involucrados en el metabolismo de tetrionato y tiosulfato en la proliferación de *Salmonella* en su hospedero**

**Mora A**<sup>1</sup>, Hidalgo A<sup>2</sup>, Nicolas V<sup>2</sup>, Mora G<sup>2</sup>, <sup>1</sup>, Medicina, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Laboratorio de Patogénesis Molecular y Antimicrobianos, Medicina, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Guido Carlos Mora Longa)

Durante su ciclo infectivo, *Salmonella* se desarrolla principalmente en un ambiente anaeróbico, siendo capaz de utilizar tetrionato y tiosulfato como aceptor de electrones en ausencia de oxígeno. Los genes del metabolismo y captación del tetrionato en *Salmonella* están regulados por el sistema de dos componentes TTRS y TTRR, los que conforman al sensor y regulador, respectivamente. La tiosulfato reductasa (TSR) de *Salmonella* puede utilizar el tiosulfato como aceptor final de electrones en ausencia de oxígeno. Tsr es una de las proteínas quimiotácticas aceptoras de metilo (MCPs) y se induce en la respuesta inflamatoria del hospedero como señal para la quimiotaxis. La comparación de secuencias de los genes implicados en el metabolismo y captación del tetrionato y tiosulfato indican que estas vías se encuentran intactas en serovares no tifoidales como es el caso de *S. Typhimurium*, mientras que distintos genes de estas vías se encuentran inactivados por mutaciones (pseudogenes) en serovares tifoidales como lo son Typhi (e.g. *tsr*) y Paratyphi (e.g. *tsr*, *ttrR*). Para determinar el rol de estos pseudogenes, se realizaron las cepas mutantes para los genes *ttrS*, *ttrR*, *tsr* en *S. Typhi* y *S. Typhimurium*. Se procedió a investigar cómo estas mutantes se ven afectadas en los procesos de adherencia, invasión y proliferación intracelular en células de cultivo HT-29. Se realizó infección intraperitoneal de ratones con las cepas mutantes y silvestre y se evaluó la proliferación bacteriana en órganos profundos. La mutación de los genes *tsr* y *ttrR* en *S. Typhimurium* y *S. Typhi* produce defectos en la proliferación, tanto en ratones como en células, respectivamente. Demostrando que tanto el metabolismo de tetrionato como el de tiosulfato son necesarios para un proceso infectivo eficiente. Seguimos estudiando los fenotipos asociados a TSR, ya que la delección del gen *tsr* entrega un fenotipo hipo proliferativo, a pesar de estar anotado y presentar características de pseudogen.

FONDECYT 1151393

**CLP2-34****Actividad antibacteriana de *Lactobacillus* contra *Pseudomonas* alterantes aisladas de pollo**

**Morales P<sup>1</sup>**, Troncoso M<sup>1</sup>, Figueroa G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile. (Sponsored by Guillermo Figueroa Gronemeyer)

Estudios revelan el potencial biocontrolador de cepas de *Lactobacillus* sobre patógenos de pollo. Sin embargo, poco se conoce de su antagonismo con bacterias alterantes. *Pseudomonas* sp. son las principales bacterias alterantes psicrotrofas del pollo envasado en aerobiosis. Nuestro objetivo fue evaluar si cepas de *Lactobacillus* antagonizan con *Pseudomonas* alterantes de pollo en refrigeración, y así formular un potencial biopreservante. Se evaluó el antagonismo de *Lactobacillus* (n=27) sobre *Pseudomonas* alterantes de pollo (n=9), mediante el método de spot en agar con doble capa (MSADC) utilizando MRS modificado sin citrato de amonio ni acetato de sodio y bicarbonato al 0,2% y MH 0,7% agar. Se evaluó si el tamaño del halo se debe al efecto inhibitorio de *Lactobacillus* y/o a la sensibilidad de *Pseudomonas* o a una interacción entre ambos factores, mediante modelo lineal general y mixto (MLGM, Infostat®). Se formaron 2 inóculos (pool A y B) con 5 cepas de *Lactobacillus* antagonistas cada uno ( $10^6$  UFC/mL) que se co-cultivaron con un set de 9 *Pseudomonas* ( $10^3$  UFC/mL) en TSBYE e incubaron a 8°C. Se hicieron recuentos diarios de *Pseudomonas* entre los días 0 y 5. Se evaluó si *Lactobacillus* retrasan la multiplicación de *Pseudomonas* mediante MLGM (Infostat®). En el MSADC, 21/27 *Lactobacillus* inhiben *Pseudomonas* generando halos de inhibición mayores a 10 mm, 1/27 producen halos de inhibición menores a 4 mm y 5/27 *Lactobacillus* no inhibieron a 1 o más *Pseudomonas*. Se comprueba que el halo de inhibición depende de *Lactobacillus* y *Pseudomonas* por separado ( $p \geq 0,05$ ). En co-cultivo a 8°C, se detecta que pool B de *Lactobacillus* retrasa la multiplicación de *Pseudomonas* al quinto día de incubación ( $p \geq 0,05$ ); en T0 (*Pseudomonas* sin *Lactobacillus*) el recuento de *Pseudomonas* alcanza  $8,44 \pm 0,22$  UFC/mL, T1 A (*Pseudomonas* con pool A de *Lactobacillus*)  $8,06 \pm 0,23$  UFC/mL y T1 B (*Pseudomonas* con pool B de *Lactobacillus*)  $7,53 \pm 0,13$  UFC/mL. Se concluye que cepas seleccionadas de *Lactobacillus* tienen actividad antagonista *in vitro* con *Pseudomonas* alterantes a 8°C, y por lo tanto, podrían tener un potencial biopreservante en pollo refrigerado envasado en aerobiosis. Se requiere confirmar esta aseveración con estudio *in situ* en pollo.

Beca CONICYT, folio número 21120298.

**CLP2-35****Mutaciones sinónimas en el gen que codifica la proteína 3-fosfoglicerato-quinasa de *Schizosaccharomyces pombe* altera su expresión y crecimiento celular**

**Moreira-Ramos S<sup>1</sup>**, Arias L<sup>1</sup>, Orellana O<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.

El plegamiento de la mayoría de las proteínas ocurre de forma co-traduccional, donde la velocidad de salida del péptido nascente desde el ribosoma es crítica. Este proceso puede ser controlado por la tasa de traducción del mRNA. Dado que el código genético es redundante y que el uso de cada codón no es homogéneo, se ha propuesto que el sesgo de uso de codones podría ser uno de los factores más importantes en el control de la velocidad de traducción, donde la presencia de ciertos codones ha sido seleccionada durante el proceso evolutivo para optimizar el plegamiento proteico. De esta forma, mutaciones sinónimas podrían alterar la estructura terciaria de una proteína debido a cambios en la velocidad de traducción, sin embargo se desconocen los mecanismos implicados en esta regulación y sus consecuencias en el plegamiento y fitness celular. El propósito de este trabajo es estudiar el efecto de mutaciones sinónimas en la expresión de la enzima 3-fosfoglicerato quinasa 1 (PGK1) y sus efectos sobre el crecimiento en *S. pombe*. Se utilizaron tres aproximaciones para determinar los sitios candidatos a ser mutados: índice de adaptación de codones e índice de adaptación al *pool* de tRNA, así como perfiles de ribosoma. Sobre la base de estos análisis, diferentes segmentos del gen PGK1 fueron mutados al azar reemplazados por codones sinónimos, introducidos en el cromosoma por recombinación homóloga. Los resultados mostraron que ciertas mutaciones alteraron el crecimiento de *S. pombe* con una concomitante alteración de los niveles de proteína total y proteína agregada de PGK1. Estos resultados sugieren un posible rol de estos codones en la modulación de la traducción de PGK1 y/o en la degradación debido a alteraciones de plegamiento.

Esta investigación fue financiada por los proyectos: FONDECYT-Postdoctorado 3150366 (SM) y FONDECYT 1150834 (OO)



**CLP2-36****Desarrollo de ligandos contra partículas no replicativas de virus Andes**

**Muena Castillo N<sup>1</sup>**, Salazar Quiroz N<sup>1</sup>, Tischler N<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular Fundación Ciencia y Vida.

Los hantavirus pertenecen a la familia *Bunyaviridae* y se encuentran en pequeños mamíferos, principalmente roedores. En América, estos virus son responsables de producir el síndrome cardiopulmonar por hantavirus (SCPH) que puede producir tasas de mortalidad de entre un 30 a un 40%. En Chile se encuentra el hantavirus Andes (ANDV) el cual es transmitido por el ratón *Oligoryzomys longicaudatus*. Actualmente no existen drogas ni vacunas aprobadas por la *Food and Drug Administration* (FDA) para el tratamiento de la enfermedad causada por ANDV. Se ha descrito que el virus infecta a las células del endotelio vascular de pulmón y se cree que las glicoproteínas virales de superficie Gn y Gc establecen interacción con receptores celulares, la cual permite que el virus sea posteriormente endocitado, donde se produce la fusión de las membranas viral y endosomal mediada por una disminución de pH. En nuestro laboratorio se han desarrollado partículas semejantes a virus (VLPs) las cuales no son replicativas y proyectan desde su superficie las glicoproteínas Gn y Gc que se asemejan al de la superficie de viriones nativos. Estas partículas pueden ser usadas para la obtención de ligandos contra ANDV sin la necesidad de manipular el virus infeccioso. VLPs obtenidas desde sobrenadante de células que expresan las glicoproteínas de ANDV permitieron la obtención de anticuerpos monoclonales murinos y ácidos nucleicos aptámeros. Los anticuerpos monoclonales murinos obtenidos se unen a glicoproteínas de ANDV y algunos inhiben a ANDV en ensayos de infección in vitro.

Proyecto FONDECYT 1140050, Proyecto FONDEF CA12|10367, Proyecto Basal PFB-16, Beca de Doctorado Nacional CONICYT

**CLP2-37****Rol de la vía ERK1/2 - MAPK - AP-1 en la activación del promotor p97 de HPV-16 en líneas celulares humanas expuestas a componentes del humo de cigarrillo.**

**Muñoz J P**<sup>1,2</sup>, Carrillo D, Leal G<sup>1,2</sup>, Limia C<sup>1,2</sup>, Aguayo F<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Oncología Básico Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

**Introducción.** La infección por el virus papiloma humano de alto riesgo (HR-HPV) es la condición necesaria pero no suficiente para la carcinogénesis de células de cuello uterino y de un subgrupo de tumores de cabeza y cuello. Se ha postulado que factores ambientales podrían colaborar en el proceso neoplásico dependiente de HR-HPV. En éste sentido, estudios epidemiológicos sugieren una relación sinérgica entre la infección por HR-HPV y el hábito tabáquico, aunque se desconoce cómo este último podría promover la oncogenicidad de HR-HPV. En este estudio se evaluó la activación de las vías de señalización MAPK y PI3K en células CaSki tratadas con componentes del humo del cigarrillo (CSC) y la alteración de la expresión de los oncogenes E6 y E7 de HPV-16. **Metodología.** Para evaluar si el CSC induce la actividad del promotor temprano de HPV16 (p97), se utilizó un sistema de genes reporteros con la Long Control Region (LCR) de HPV-16 clonada en el vector pmirGLO-Luc. Además, mediante ensayos de inmunofluorescencia y RT-qPCR se analizó la expresión de los oncogenes virales. Posteriormente, utilizando un análisis proteómico de fosfoproteínas, se evaluó la participación de la vía MAPK y PI3K post-tratamiento con CSC. Finalmente, usando inhibidores de la vía EGFR/MAPK se evaluó el rol que cumple esta cascada de señalización en la expresión de los oncogenes virales. **Resultados.** El tratamiento con CSC induce la activación de p97 y la expresión de los oncogenes virales. Además, el tratamiento con CSC induce la activación de la vía de señalización MAPK/PI3K y el uso de inhibidores reveló que EGFR juega un rol imprescindible en el aumento de la actividad transcripcional de HPV-16. Finalmente, la activación de esta vía se asocia con la fosforilación de AP-1. **Conclusión.** Los componentes del humo del cigarrillo promueven la activación de p97 de HPV16 y la activación de la vía EGFR-MAPK-AP-1 en células de cáncer de cuello uterino. Financiado por Proyecto Fondecyt 1161219

**CLP2-38****Bioprospección de cianobacterias de la región de Tarapacá para la obtención de polihidroxicanoatos**

**Muñoz F<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Agricultura del Desierto y Biotecnología, Recursos Naturales y Renovables, Universidad Arturo Prat.

Las cianobacterias tienen un gran potencial inexplorado para la obtención de productos naturales biosintetizados por fotofermentación con una gran variabilidad en su estructura y actividad biológica. En condiciones de estrés estas han sido reportadas en la literatura como productoras de importantes biopolímeros, en especial polihidroxibutirato (PHB). El PHB constituye una de los polímeros que forman bioplásticos, los que a su vez, constituye una respuesta frente a la alta tasa de contaminación por plásticos artificiales. Estos Bioplásticos tienen la ventaja de ser biocompatibles además de biodegradables. Nuestro objetivo fue aislar cepas nativas desde distintas fuentes hídricas de la Región de Tarapacá, y determinar su capacidad de sintetizar bioplásticos del tipo PHB. De un total de 11 cepas aisladas, solo 2 de ellas dieron positiva para la síntesis de PHB y su potencial obtención, esto según el método de tinción con Rojo Nilo y la evaluación de su crecimiento. De este grupo, la cepa COP, demostró una capacidad productora de PHB en cultivo bajo limitación de la fuente de nitrógeno. El análisis de cromatografía gaseosa registró la presencia de PHB con un rendimiento de  $2,7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  tras 20 días de fermentación, resultado que demuestra su gran potencial de desarrollo biotecnológico.

- Proyecto del Fondo de Desarrollo Institucional 2012 (FDI):

“Obtención de Biopolímeros de Interés Biotecnológico (IQUP01FDI020405060037)”: M\$2970 Dir./Titular: Francisco Muñoz C.

- Vicerrectoría de Investigación y Posgrado. Universidad Arturo Prat

**CLP2-39****Diversidad Microbiana psicrófila del Glaciar Grey, Parque Nacional Torres del Paine, Chile.**

**Muñoz P<sup>1</sup>**, Arán P<sup>1</sup>, Severino E<sup>2</sup>, Dorador C<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Instituto Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Antofagasta. <sup>2</sup>Instituto Antofagasta Universidad de Antofagasta. <sup>3</sup>Instituto Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta.

El **Glaciar Grey** forma parte de los campos de hielo sur, ubicado en Parque Nacional Torres del Paine (50° 57' S 73° 15' O), cuyo deshielo alimenta al **Lago Grey**. En el agua del lago la temperatura es cercana a los 5 °C, siendo ligeramente inferior a medida que se acerca al glaciar, bordeando los 0 °C. Tales temperaturas favorecerían la presencia de microorganismos psicrófilos, aunque es de relevancia que es un lago oligotrófico con una gran cantidad de sólidos disueltos totales característica que no concuerda con lagos de baja productividad primaria.

La característica más importante de los organismos psicrófilos es su capacidad para crecer a bajas temperaturas, con maquinaria metabólica, adaptada al funcionamiento a bajas temperaturas y mayor fluidez de la membrana, llamando la atención por potenciales aplicaciones biotecnológicas.

En este trabajo se analizaron las comunidades microbianas (Bacteria/Archaea/Eukarya) de los sistemas continuos Glaciar-Lago Grey, y se comparará su distribución, riqueza y diversidad. Además, se estudiará la diversidad cultivable presente en los distintos sitios de muestreo.

Para ello se tomaron muestras de 4 sitios distintos del lago, una muestra de témpano y 2 muestras de hielo a distintas profundidades del glaciar. A todas las muestras se les realizó extracción de eDNA para secuenciación por Illumina MiSeq, se prepararon cultivos de enriquecimiento en 8 medios de cultivo, incubados a 4 °C y posteriormente identificados por secuenciación, gen16S rRNA específico para bacteria.

En relación a bacterias cultivables (n=119), la mayor diversidad se obtuvo en medio de cultivo ABM y R2A, con 29% y 21% del total de bacterias obtenidas.

La proyección de este trabajo es estudiar por primera vez la diversidad cultivable y no cultivable de los microorganismos psicrófilos del Glaciar-Lago Grey, zonas de eventos pasados que pueden ayudar a comprender cómo la diversidad microbiana puede desarrollarse en sistemas acuáticos glaciares.

Financiamiento: Proyecto ELAC2014/DCC-0178

**CLP2-40****Aspectos termodinámicos del rol del oligosacárido central en la estabilidad de vesículas de Lipopolisacáridos.**

**Navarro B<sup>1</sup>**, Aguayo D<sup>2</sup>, Alarcon M<sup>2</sup>, Inostroza A<sup>2</sup>, Correa S<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB), Ciencias Biológicas, Universidad Andres Bello. <sup>2</sup>Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso. Universidad de Valparaíso.

Los Lipopolisacáridos (LPS) son el mayor componente de la cara externa de la membrana externa. Cada monómero de LPS se subdivide en tres regiones: lípido A, oligosacárido central (OC) y el Antígeno O. El OC es descrito como una región conservada entre las enterobacterias, sin embargo, puede ser dividido en dos regiones denominadas núcleo interno y externo según las azúcares y sustituciones presentes, dando origen a una heterogeneidad intra especie. La naturaleza anfipática del LPS lo lleva formar micelas cuando se alcanza un umbral de concentración específico (Concentración Micelar Critica o CMC), mediado principalmente por las interacciones hidrofóbicas del Lípido A. Recientemente, se ha descrito que bajo condiciones de estrés como temperatura o presencia de factores exógenos como antibióticos las propiedades de la membrana externa se ven modificadas, aumentando o disminuyendo su permeabilidad. Lo anterior nos lleva a proponer que modificaciones en el oligosacárido central influyen en directamente en las interacciones entre LPS-LPS alterando el proceso de autoagregación y subsecuentemente las propiedades de la capa de LPS de la membrana externa. Para responder esta hipótesis se utilizó Calorimetría de titulación isotérmica (ITC) para determinar la CMC requerida para la formación de vesículas artificiales de LPS a través del método de determinación del calor de demicelización. Esta técnica permitió determinar los aportes entálpicos y entrópicos involucrados en el proceso de agregación de LPS extraídos de la cepa E. coli K-12 silvestre y de las cepas mutantes en la ruta de biosíntesis del oligosacárido central  $\Delta waaF$  y  $\Delta waaY$ . Los cambios observados sugieren que no solo las interacciones entre las cadenas alifáticas del LPS son significativas para la estabilidad de la ME, sino que también las interacciones LPS-LPS a nivel del oligosacárido central.

Fondecyt Inicio en la Investigacion 11130576.

Filiacion Universidad Andres Bello, Facultas de Biología, Center for Bioinformatics and Integrative Biology (CBIB), Santiago, Chile. Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso, Chile. Millenium Initi ative 09-022-F

**CLP2-41****Evaluación de la capacidad de producción de biofilm en *Staphylococcus coagulasa*-positivas aislados de mastitis bovina**

**Navea-Perez H<sup>1</sup>**, Parra A<sup>1</sup>, Figueroa G<sup>1</sup>, Reyes-Jara A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile. (Sponsored by Angelica Reyes)

**ANTECEDENTES:** Las especies *Staphylococcus coagulasa*-positivas son uno de los agentes causantes de Mastitis Bovina (MB) más prevalentes, entre estos *S. aureus* y *S. intermedius*. Uno de sus principales factores de virulencia es su capacidad de formar biofilm, el cual ofrece a los microorganismos una barrera de protección frente a la respuesta inmune del hospedero y a las terapias antimicrobianas, permitiéndoles establecerse como fuente continua de infección y contaminación. Para la evaluación cuantitativa de la capacidad de formación de biofilm, la prueba de microplaca es el ensayo más utilizado, realizándose generalmente en condiciones que no se asemejan al modelo *in vivo*, por lo que los resultados pueden no reflejar la verdadera capacidad de formación de biofilm de los aislados. **OBJETIVO:** Evaluar la capacidad de formación de biofilm de dos especies *Staphylococcus coagulasa*-positivas provenientes de MB en microplaca, en condiciones de agitación y con medio de cultivo suplementado con lactosa al 4,5%. **METODOLOGÍA:** Se seleccionaron 29 aislados de *S. aureus* y 19 de *S. intermedius* provenientes de muestras de leche de vacas con Mastitis Clínica (MC) y Subclínica (MS), y se evaluó su capacidad de formación de biofilm en placas estériles de poliestireno bajo cuatro condiciones: (1) Condición Estática + Medio caldo tripticasa-soya (TSB), (2) Condición Estática + TSB suplementado con Lactosa 4.5% (L4.5%), (3) Condición Agitación + TSB, (4) Condición Agitación + L4.5%. **RESULTADOS:** El medio L4,5% aumenta la capacidad de formación de biofilm de los aislados ( $p < 0,05$ ). Los resultados también sugieren que *S. intermedius* posee mayor capacidad de formación de biofilm que *S. aureus* ( $p < 0,05$ ). Los factores "cuadro clínico" y "condición estática y de agitación" no afectaron la capacidad de formación de biofilm de los aislados ( $p > 0,05$ ). **CONCLUSIÓN:** La lactosa aumenta la producción de biofilm de *S. aureus* y *S. intermedius* provenientes de MB.

Proyecto ENL018/16

**CLP2-42****Presencia y caracterización de aislados de *Botrytis* silvestres en plantas nativas de El Peñón y Totalillo en la Región de Coquimbo.**

**Notte A**<sup>1,2</sup>, Castillo L<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena. <sup>2</sup>Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética Universidad de La Serena.

*Botrytis cinerea* es un hongo fitopatógeno que afecta a más de 200 especies diferentes de plantas, es el segundo hongo fitopatógeno de importancia por pérdidas económica agrícolas a nivel mundial. Sin embargo, la presencia de este hongo en la flora nativa en la Región de Coquimbo y su impacto en la flora local aún no han sido estudiados. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue la detección y caracterización de aislados silvestres de *Botrytis* en los sectores de El Peñón y Totalillo, obteniéndose un total de 18 aislados silvestres de *Botrytis* entre ambos sectores. El estudio genotípico de los aislados silvestres de *Botrytis* determinó que sólo 4 aislados pertenecen a la especie *B. cinerea*. Además, el análisis de la secuencia del *espaciador transcribible interno* (ITS) determinó diferencias de éstas con respecto a la cepa de referencia *B. cinerea* B05.10. Adicionalmente, se caracterizaron los aislados silvestres basados en la presencia de dos elementos móviles (TE's) *Boty* y *Flipper*, la cual presentaron una predominancia en el genotipo *Transposa* (ambos TE's). Por otro lado, algunas de los aislados silvestres presentaron resistencia al antifúngico *Boscalid*. Adicionalmente, el 83,33% de los aislados silvestres no ha perdido la capacidad de infección con respecto a la cepa de referencia. Sin embargo, el 77,77% presentaron niveles de esporulación menor en comparación con la cepa de referencia. Estos resultados podrían estar relacionados con la variación genética de los aislados encontrados en este estudio. Este estudio confirma la presencia de *B. cinerea* en la flora nativa de El Peñón y Totalillo, indicando la posible amenaza de *Botrytis* en la flora nativa de la Región de Coquimbo. Se necesitará realizar más estudio para poder determinar si estos aislados son los mismos que están presentes en los cultivos agrícolas de la zona, por lo tanto, esto podría significar que la flora nativa podría actuar como un reservorio natural para *Botrytis*.

Programa de Financiamiento a Tesis de Postgrado PT13121 de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Serena

Proyecto Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética NC120043



**CLP2-43****Actividad antifouling de biopinturas basadas en extractos de algas marinas y sus bacterias epibiontes**

**Obreque M**<sup>1</sup>, Ruiz-Tagle N<sup>2</sup>, Bustos E<sup>3</sup>, Perez C<sup>3</sup>, Becerra J<sup>3</sup>, Urrutia H<sup>2</sup>, Sossa K<sup>4,5, 1</sup>, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción.<sup>2</sup>Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental Universidad de Concepción.<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.<sup>4</sup>Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción.<sup>5</sup>Facultad de Ciencias Forestales Universidad de Concepción. (Sponsored by Katherine Sossa)

*Biofouling* es la adherencia y acumulación de depósitos bióticos (micro y macrofouling) en una superficie artificial en contacto con agua marina, problema que genera millonarias pérdidas en la industria acuícola y naviera. Como solución se usan pinturas antifouling, en su mayoría tóxicas para el ambiente, por lo que el desafío actual es la búsqueda de compuestos activos naturales e inocuos. Los sistemas marinos nos han presentado organismos con estas últimas cualidades y por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibiofouling de biopinturas elaboradas a partir de algas marinas y sus bacterias epibiontes.

Se colectaron macroalgas (intermareal, VIII Región) y seleccionaron bacterias epibiontes con actividad antibiofouling y bacterias formadoras del microfouling. La selección del componente activo de la biopintura se realizó a través de ensayos de antagonismo y quimiotaxis de extractos de algas y bacterias epibiontes contra bacterias del microfouling (BM). La elaboración de las biopinturas se realizó con bases inocuas, el componente activo y controles que fueron aplicados sobre láminas de acero inoxidable. El efecto de la biopintura se probó en ensayos de microcosmos en agua de mar. Se utilizó como control positivo una pintura comercial antifouling. Extractos del alga *Ulva sp.* lograron atraer 5 bacterias con actividad antagónica del microfouling (AL1M7, M9C) y no se observó atracción de BM, además presentó inhibición significativa sobre DM52 y C51. Los extractos de *C. chamosoi*, *M. latissimus* y *Mazzaella sp.* fueron descartados ya que no presentaron actividad antibiofouling. Los extractos de *Pyropia sp.* y *D. ligulata* también fueron descartados ya que presentaban actividad antagónica sobre bacterias con actividad antibiofouling. Finalmente en el ensayo de microcosmos se vio que las biopinturas elaboradas a partir de extractos de *Ulva sp.*, AL1M7 y M9C tenían un efecto comparable o mejor que la pintura comercial

INNOVA Chile 11IDL2-10665

**CLP2-44****El inicio de la traducción IRES-dependiente del mRNA retroviral requiere de una “Experiencia Nuclear”**

**Olguín V<sup>1</sup>**, Olivares E<sup>1</sup>, López-Lastra M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Retroviral mRNAs including those of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1), and the mouse mammary tumor virus (MMTV) can initiate translation using an internal ribosome entry sites (IRES). Retroviral IRESs require cellular proteins, termed IRES trans-acting factors (ITAFs) for their function. A number of ITAFs are well characterized nuclear-cytoplasmic shuttling proteins that primary reside in the nucleus. Based on this observation, we propose that certain ITAFs are recruited to the viral mRNA in the nucleus, and are delocalized to the cytoplasm as part of a ribonucleoprotein complex in association with the viral mRNA, enabling IRES-dependent translation initiation. If so, we predict that when found in the cytoplasm retroviral IRES would be functional only if the mRNA has had a passage through the cell nucleus. On the contrary, if a nuclear experience is not an absolute requirement for ITAFs loading, the ribonucleoprotein complex would form in the cytoplasm allowing IRES-mediated translation initiation to occur even when the viral mRNA has not had a passage through the cell nucleus. In this study we evaluated whether IRES from the mRNAs of retroviruses requires a nuclear experience to be functional. For this IRES-dependent translation initiation of HIV-1, HTLV-1 and MMTV was assessed using *in vitro* synthesized bicistronic mRNAs or in cell transcribed bicistronic mRNAs. Results show that IRES-elements are functional only when the bicistronic mRNA is synthesized in cells. These results strongly suggest that a nuclear experience is necessary for the functionality of the evaluated retroviral IRES.

Work Supported by FONDECYT 1130270, P09/016-F de la Iniciativa Científica Milenio del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. VO is a CONICYT Doctoral Fellow.

**CLP2-45****Selección de bacterias intrínsecamente resistentes desde la microbiota de *Salmo salar* sometidos a altas concentraciones de florfenicol y oxitetraciclina**

**Olivares J**<sup>1</sup>, Higuera-Llantén S<sup>2</sup>, Vasquez-Ponce F<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <sup>2</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

El uso desmedido de antibióticos es el principal problema que la industria salmonera ha debido enfrentar en los últimos años. Este uso desmedido tiene su origen en el poco control que existe de las enfermedades infecciosas. Dos son las principales formas de administración de antibióticos: comida medicada y baños de inmersión. Si bien existe un amplio rango de antibióticos que podrían ser utilizados con fines veterinarios, casi el 95% corresponde a florfenicol y oxitetraciclina. Ambos antibióticos de amplio espectro que afectan la síntesis de proteínas. Pocos son los estudios que se han llevado a cabo respecto del impacto del uso de antibióticos sobre las diferentes poblaciones bacterianas asociadas a la acuicultura. Dentro de estas poblaciones podemos encontrar tres fundamentales: la microbiota intestinal de los peces, las de los sedimentos y las que viven en la columna de agua. En el presente trabajo se han aislado bacterias cultivables tanto desde material fecal, como desde el mismo intestino de los peces. Estas bacterias se crecieron a diferentes temperaturas 15, 25, 30 y 37°C en concentraciones crecientes (1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 y 2048 µg/mL) de florfenicol y oxitetraciclina. De todas aquellas colonias que podían crecer desde los 64 µg/mL para ambos antibióticos, fue secuenciado su ARNr 16S. Entre los resultados podemos mencionar que fue posible encontrar que *Pseudomonas fragi* es capaz de crecer hasta 2048 µg/mL de florfenicol. Mismo resultado fue encontrado con *Carnobacterium maltaromaticum* y *Lactobacillus sakei* que ambas fueron capaces de resistir hasta 2048 µg/mL de oxitetraciclina. Como se muestrearon zonas altamente impactadas con antibióticos y otras con poco uso hemos podido demostrar que este uso de antibióticos está enriqueciendo el poblaciones bacterianas intrínsecamente resistentes en la microbiota de los peces

Proyecto FONDECYT: 11150858

**CLP2-46****Análisis genéticos y fenotípicos de aislados silvestres de *Botrytis* asociados a la vegetación de la Región de Coquimbo**

Marambio B<sup>2,1</sup>, Olivares L<sup>2,1</sup>, Lagües Y<sup>2,1</sup>, Plaza V<sup>2,1</sup>, Castillo L<sup>2,1</sup>, <sup>1</sup>Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética Universidad de La Serena. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

*Botrytis cinerea* es un hongo fitopatógeno que produce la enfermedad podedumbre gris en más de 200 tipos de plantas. En Chile se ha descrito que afecta principalmente a las hojas y/o frutos de frutillas, arándanos, tomates y uvas. Sin embargo existe poca evidencia de infección de *Botrytis* en plantas nativas a nivel nacional. El objetivo de este estudio fue caracterizar fenotípica y genotípicamente 11 cepas silvestres de *Botrytis* obtenidos de plantas nativas o endémicas de las localidades de Caleta de Hornos, Punta Teatinos, Quebrada de Talca y Parque Nacional Bosque de Fray Jorge. Los análisis genéticos de ITS y PCR-RFLP, confirman la presencia del género *Botrytis* en las cepas aisladas. Por otro lado, la amplificación de los transposones *Boty* y *Flipper* en los aislados de *Botrytis* mostraron la prevalencia del genotipo *Transposa* en todos los sitios de estudio. Los ensayos de resistencia a antifúngicos (Fludioxonil, Iprodione, Fenhexamid, Tebuconazole y Boscadil) señalan que la gran mayoría de las cepas son sensibles a estos. Además, los resultados en la formación de esclerocios y esporas mostraron diferencias significativas entre los aislados, sin embargo no se puede correlacionar con el grado de virulencia. Estos resultados indican que no existe asociación entre el genotipo (*Boty*, *Flipper*, *Vacuma*, *Transposa*) y la resistencia a antifúngicos y/o virulencia. En resumen los aislados de *Botrytis* presentan variación fenotípica y genotípica que podría explicar la capacidad de poder infectar a una amplia gama de vegetación

Núcleo Milenio Biología Fúngica Integrativa y Sintética NC120043

**CLP2-47****Análisis del proteoma de vesículas de membrana externa de *Piscirickettsia salmonis* mediante MudPIT.**

**Oliver C<sup>1</sup>**, Hernandez M<sup>2</sup>, Yañez A<sup>2</sup>, Sanhueza C<sup>2</sup>, Avendaño-Herrera R<sup>3</sup>, <sup>1</sup> Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Jaime Eugenio Figueroa Valverde)

*Piscirickettsia salmonis* es uno de los principales patógenos acuícolas que afectan a la salmonicultura chilena. Esta bacteria Gram-negativa es altamente infecciosa y es el agente etiológico de la Septicemia Rickettsial del Salmón (SRS) o Piscirickettsiosis que causa cuantiosas pérdidas económicas en la industria salmonera en Chile. Las vesículas de membrana externa (OMVs) son estructuras esféricas de aproximadamente 10-300 nm producidas por bacterias Gram-negativas. Recientemente, hemos demostrado que *P. salmonis* produce y secreta OMVs tanto *in vitro* como *in vivo*, siendo citotóxicas para las células hospederas. Además, mediante espectroscopía de masas LC-MS/MS se describió la presencia de reconocidos factores de virulencia, incluyendo la proteína de membrana externa A (OmpA) y proteína de estrés térmico 60 (Hsp60). Así, para ampliar el conocimiento de las proteínas que son transportadas por las OMVs y conocer las funciones asociadas a éstas y las implicancias de las OMVs en la virulencia de *P. salmonis*, el objetivo de esta investigación fue estudiar el proteoma de OMVs purificadas desde la cepa tipo de *P. salmonis* LF-89<sup>T</sup> mediante MudPIT.

Nuestro estudio permitió la identificación de 452 proteínas contenidas en las OMVs de LF-89<sup>T</sup>, incluyendo proteínas de diferentes compartimentos sub-celulares, siendo la mayoría de estas proteínas asociadas a la fracción citoplasmática así como relacionadas con funciones clave para la supervivencia de este patógeno. Adicionalmente, este estudio confirmó la presencia de putativas proteínas relacionadas a virulencia, no identificadas anteriormente. Es interesante destacar la identificación de 4 reconocidas toxinas bacterianas descritas previamente en otros conocidos agentes patógenos. Así, sobre la base de las proteínas identificadas en el presente estudio, podemos sugerir que la composición proteica de las OMV de *P. salmonis* LF-89<sup>T</sup> podría reflejar las características del proteoma global de *P. salmonis*.

FONDAP-INCAR N° 15110027 y FONDECYT Post-doctorado N° 3160849.

**CLP2-48****Identificación de bacterias Antárticas (BA) que inhiben el crecimiento de bacterias patógenas humanas**

**Orellana P<sup>1</sup>**, Pavón A<sup>1</sup>, Salazar L<sup>1</sup>, Gutiérrez A<sup>1</sup>, Corsini G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile.

Las bacterias que habitan en ambientes extremos, secretan metabolitos secundarios que actúan como moléculas de defensa frente a otros microorganismos que compiten por mantenerse en el mismo nicho ecológico. La identificación de bacterias aisladas de estos ambientes poco explorados, como el continente Antártico, permite la caracterización de nuevas moléculas con diferente actividad biológica, inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas humanas, al actuar como antimicrobianos, haciendo frente a la actual demanda de antibióticos de origen natural. El objetivo de este estudio se centró en identificar bacterias antárticas (BA) que inhiben el crecimiento de bacterias patógenas humanas. Para ello, siete BA aisladas a partir de la rizósfera de la planta *Deschampsia antarctica* que crece en suelo Antártico, se caracterizaron en base a morfología, tinción de Gram y actividad enzimática, mediante el sistema de detección de enzimas API-ZYM. Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana frente a los antibióticos cefotaxima (CTX), cefuroxima (CXM), norfloxacino (NOR), gentamicina (GE), cefadroxilo (CPH), amikacina (AK) y ampicilina (AM), mediante el método de difusión en agar utilizando la técnica de Kirby-Bauer. Se aisló ADN genómico y se amplificó por PCR el gen rRNA 16S usando partidores universales. Finalmente, la identificación de las bacterias se llevó a cabo mediante secuenciación del gen rRNA 16S. Los resultados mostraron que las siete BA corresponden a bacilos Gram negativo, con actividad para las enzimas fosfatasa alcalina, estereasa (C4), estereasa lipasa (C8), leucina arilamidasa, fosfatasa ácida y naftol-AS-BI-fosfohidrolasa. Las siete BA presentaron resistencia a CTX, CXM, CPH y AM. El análisis de las secuencias del gen 16S rRNA demostró que las siete BA pertenecen a la familia *Pseudomonadaceae*. En conclusión, las seis BA productoras de moléculas antimicrobianas analizadas, se identificaron en base a perfiles metabólicos y genéticos, determinándose que pertenecen a un grupo compacto asociado al género *Pseudomonas*.

Proyecto DIP 66/2016 Universidad Autónoma de Chile

**CLP2-49****Diversidad y prevalencia de profagos en bacterias sulfato reductoras**

**Orellana R**<sup>1</sup>, Valencia, R<sup>1</sup>, Seeger M<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt Universidad Técnica Federico Santa María. <sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental Universidad Técnica Federico Santa María.

Bacteriofagos o fagos corresponden a virus que afectan a bacterias. Los fagos son importantes como una fuente de variabilidad genómica de comunidades microbianas y como un determinante en su composición, debido a infecciones desarrolladas (fase lítica). Debido a esto, en la actualidad hay un creciente interés por demostrar el papel que los fagos pueden tener a una escala ecológica mayor. Las bacterias sulfato reductoras (BSR) son un grupo relevante en el ciclo de nutrientes de diversos sedimentos marinos. Estas bacterias son las responsables del consumo de más del 50% del carbono orgánico presente en dichos medioambientes. Adicionalmente, las BSR poseen un papel relevante tanto en la corrosión de metales y cemento.

En la actualidad muy poco se conoce acerca de la presencia de fagos en BSR y de cómo estos influyen en el ensamblaje de comunidades microbianas complejas. Debido a esto, el presente trabajo tiene como objetivo la identificación de nuevos profagos en 72 genomas públicos de especies BSR, a través de diversas estrategias que utilizan la homología de genes asociados a fagos a nivel de secuencia (PHAST, Phage\_Finder), como también el entorno genómico de hospederos previamente caracterizados (PhiSpy). Los resultados obtenidos a través de ambas estrategias reflejaron que una alta proporción de BSR poseen regiones candidatas de profagos en sus genomas. En particular, *Desulfovibrio vulgaris* str. Hildenborough, *Desulfovibrio* cf. *magneticus* IFRC170 y *Desulfovibrio oxycloinae* DSM 11498 corresponden a las tres especies con mayor contenido de profagos en sus secuencias de genoma. Adicionalmente, se realizó una anotación de los genes pertenecientes a estas regiones genómicas y una posterior clasificación de estos en clusters funcionales relacionados tanto a la replicación y mantenimiento de ADN, como a la formación de la estructura viral.

PAI-Rex 82140028



**CLP2-50****El pez cebra como modelo de infección para el estudio de la virulencia de *Piscirickettsia salmonis***

**Ortiz-Severín J<sup>1</sup>**, Stuardo C J<sup>1</sup>, Allende M<sup>1,2</sup>, Cambiazo V<sup>3,2</sup>, Chávez F P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.<sup>2</sup>FONDAP Center for Genome Regulation, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.<sup>3</sup>Departamento de Biología, INTA, Universidad de Chile.

*Piscirickettsia salmonis* es una bacteria intracelular facultativa que causa la Septicemia Rickettsial de Salmónidos (SRS). Es capaz de colonizar diversos tejidos y órganos, lo que culmina con la septicemia y muerte del animal. Esta bacteria sobrevive al interior de macrófagos y se multiplica en ellos al interior de vacuolas replicativas unidas a la membrana. La forma natural de transmisión es desconocida, pero luego de ingresar al organismo se disemina sistémicamente a través de la sangre. Los estudios de virulencia de la bacteria son dificultosos y costosos en salmónidos, haciendo necesario el desarrollo de un modelo animal de experimentación. El pez cebra (*Danio rerio*) se destaca por su fácil manejo en laboratorio, abundante progenie y disponibilidad de mutantes y transgénicos, y ha sido ampliamente utilizado en estudios de interacción patógeno-hospedero. Mediante microinyecciones sistémicas de la bacteria en larvas de pez cebra silvestres y transgénicas *Tg(mpx:GFP)*, se visualizó el progreso de la infección *in vivo*. Se evaluó diariamente la mortalidad de las larvas y el efecto fisiopatológico de la infección, el cual se relacionó con la presencia de la bacteria. La inyección con *P. salmonis* generó una baja mortalidad en las larvas, sin embargo se observó un patrón característico en la migración de los neutrófilos asociada a la presencia de la bacteria. Además de un aumento total en la cantidad de neutrófilos marcados, se observó un reclutamiento de estos en la zona ventral del pez, extendiéndose desde la zona hematopoiética caudal hacia la zona anterior. Esta respuesta inflamatoria es específica frente a la inyección de *P. salmonis*. La persistencia de la bacteria en el pez días luego de la inoculación, sumado a la respuesta inflamatoria y el reclutamiento de neutrófilos observado, establece al pez cebra como un posible hospedero alternativo para el estudio *in vivo* de la interacción patógeno-hospedero con *P. salmonis*.

Proyecto Fondecyt 1120209 (FP) y 1160802 (VC), FONDAP 15090007 y Beca CONICYT Doctorado Nacional 2013 (JO)

**CLP2-51****Análisis del mecanismo de resistencia a plomo en la cepa *Bacillus safensis* RP10**

**Ortiz M<sup>1</sup>**, Villavicencio L<sup>1</sup>, Ponce R<sup>1</sup>, Strahsburger E<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat.<sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular. Programa de Doctorado en Agronomía del Desierto y Zonas Áridas, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat.

Desde los suelos del desierto de Atacama, los cuales se caracterizan por poseer altos niveles de metales pesados, se aisló la bacteria *Bacillus safensis* cepa RP10. Esta bacteria Gram positiva, formadora de esporas, se caracterizó por poseer resistencia a metales pesados. Entre ellos, mostró una resistencia a plomo con una concentración mínima inhibitoria 5mM. La incubación de la cepa con 100, 50, 25, 10, 5, y 2,5 mM de plomo en caldo Luria Bertani mostró la formación de sustancias poliméricas extracelulares en cantidades directamente proporcionales a la concentración de plomo agregada. Para comprender los posibles mecanismos asociados a esta resistencia a Pb(II) se secuenció el genoma bacteriano mediante el método Illumina. Este genoma es de 3.821.162 pb, posee 106 contigs y su promedio es de 41,7 % GC. El análisis bioinformático mostró varios mecanismos de resistencia a plomo. Se encontró un transportador ATPasa de Cd, Zn y Co, el cual está descrito que participa en el transporte de plomo. Además, se encontró un posible operon *EpsABCDEFGHIKLMN*, también descrito en *Bacillus subtilis* para la síntesis de exopolímeros, y que en otros microorganismos se utiliza para absorber metales pesados. Este análisis nos permite establecer diseños experimentales dirigidos a comprender el mecanismo de protección contra plomo en la cepa *Bacillus safensis* RP10, considerando la síntesis de un exopolímero inducido por alta concentración de Pb(II) y que podría absorber este metal.

Vicerrectoría Académica de la Universidad Arturo Prat, Proyecto DE1549 y Vicerrectoría de Investigación, Innovación y Postgrado de la Universidad Arturo Prat Proyecto, VRIP0220-15, VRIP0218-15

**CLP2-52****Participación de la Quinasa SRC en la fragmentación del Golgi durante infección neuronal por HSV-1**

Martin C<sup>3</sup>, Leyton L<sup>3</sup>, Mardones G<sup>1,4</sup>, Concha M I<sup>2</sup>, **Ott C<sup>3,4</sup>**, <sup>1</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.<sup>2</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.<sup>3</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.<sup>4</sup>Centro Interdisciplinario de Estudios del Sistema Nervioso (CISNe) Universidad Austral de Chile.

Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is a ubiquitous pathogen which establish a latent persistent neuronal infection in humans and is considered a risk factor for the development of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease. Several studies have reported that during HSV-1 epithelial infection, the virus modulates several cell signalling pathways and remodel the membranes of the Golgi apparatus (GA). However, it is unknown if this remodelling also occurs in infected neurons and if so, what are the consequences on neuronal functioning. In this regard, we observed Src kinase-dependent pathway activation during early HSV-1 infection, resulting in an increased phosphorylation/activation status of its downstream target Dynamin 2, which is implicated in the vesiculation of the GA. Western-blot, double immunofluorescence and electron microscopy analyses showed changes in the subcellular distribution pattern of both markers; characterized by dispersed punctuate cytoplasmic foci. Ultrastructural analyses showed dilatation, discontinuity and disruption of the stacks of neuronal GA, characteristic of Golgi fragmentation. Interestingly, all these effects induced by HSV-1 infection were markedly reversed by previous treatment with the Src inhibitor (PP2). These results suggest that modulation of Src kinase signalling by HSV-1 affects the integrity of neuronal GA and may be associated with impaired protein trafficking, which could lead to loss of integrity of the synaptic components.

Fondecyt: 1150574 and CONICYT 24121539

**CLP2-53****Susceptibilidad antimicrobiana de *Nitrosomonas europaea* a nanoparticulas de cobre**

**Parada J**<sup>1</sup>, Rubilar O<sup>2,3</sup>, Tortella G<sup>2,3</sup>, <sup>1</sup>Doctoral Program in Sciences of Natural Resources Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Chemical Engineering Department Universidad de La Frontera. <sup>3</sup>Scientific & Technological Bioresource Nucleus Universidad de La Frontera.

The use of metal nanoparticles has increased during the last years due to their unique physicochemical properties. Particularly, copper nanoparticles (Nano-Cu) have been included on medical devices and other products due to their reported antimicrobial activity against pathogenic microorganisms. However, studies have demonstrated the negative impact of metal nanoparticles released to the environment, especially on biogeochemical processes in soil such as the nitrogen cycle. The inhibitory effect of Nano-Cu has been scarcely studied in this context even when the effect of bulk copper on nitrification was reported. The aim of this work was to determine under *in vitro* conditions the antimicrobial susceptibility of *Nitrosomonas europaea* to copper nanoparticles. To achieve this the activities that were carried out are: characterization of commercial Nano-Cu (40-60 nm nominal size) by UV-VIS spectroscopy, by dynamic light scattering (DLS) and Zeta potential to determine their hydrodynamic diameter and surface charge (Zetasizer NanoSeries, UK) and Scanning Electron Microscopy (SEM) to determine size and morphology. The susceptibility of *Nitrosomonas europaea* (NCIMB11850) to Nano-Cu and copper sulphate ( $\text{CuSO}_4$ ) (used as bulk form of copper) was explored. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined. Finally, the effect of varying concentration of Nano-Cu (10, 50 and 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) on the cellular viability of *N. europaea* was evaluated using LIVE/DEAD bacterial viability kit combined with confocal laser scanning microscopy (CLSM). The results showed that *N. europaea* is sensitive to Nano-Cu, even when their measured size (>300 nm) was inconsistent with the nominal size supplied by the manufacturer. The inhibitory effect of Nano-Cu was higher compared to their bulk form. This was evidenced from the MIC of Nano-Cu on *N. europaea*, which was lower to the obtained for  $\text{CuSO}_4$  (3  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and 6  $\mu\text{g mL}^{-1}$  respectively). Similarly, the MBC was 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and 8  $\mu\text{g mL}^{-1}$  for Nano-Cu and  $\text{CuSO}_4$  respectively. Also, Nano-Cu reduced the viability of *N. europaea* grown up to log phase, evidenced by membrane damage from 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of Nano-Cu exposure. It can be concluded from this study that Nano-Cu are toxic and potentially may endanger the nitrification in soil.

FONDECYT Regular No. 1161713; FONDECYT Regular No. 1130854

## CLP2-54

**La excisión *in vivo* de ROD21 de *Salmonella* Enteritidis, juega un papel clave en la regulación de la expresión de los genes durante las diferentes fases del ciclo infeccioso en un modelo murino de infección temprana**

**Pardo-Roa C**<sup>1</sup>, Salazar G<sup>1</sup>, Noguera L<sup>1</sup>, Salazar-Echegarai F<sup>1</sup>, Coronado I<sup>1</sup>, Palavecino C<sup>1</sup>, Riedel C<sup>2</sup>, Kalergis A<sup>1</sup>, Alvarez-Lobos M<sup>3</sup>, Bueno S<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Pontificia Universidad Católica de Chile.<sup>2</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Universidad Andrés Bello.<sup>3</sup>Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

ROD21 is a Pathogenicity Island present in the chromosome of *S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Dublin*, and *S. Typhi* that harbors several genes encoding virulence associated proteins like T1pA, *TraD* and *MobA/MobL*. We demonstrated that ROD21 is an excisable pathogenicity island and that the excision is a dynamic process related with the environmental conditions. *In vitro* assays showed that strains unable to excise ROD21 have higher expression of the genes into the PAI. These results suggest that the excision of PAIs can act like a regulation mechanism for gene expression during the infective process. **Methods:** Ten C57BL/6 mice were infected intragastrically with  $1 \times 10^6$  CFU of *S. Enteritidis* PT4 NCTC13349 or *S. Enteritidis* PT4  $\Delta sen1970\Delta sen1998$  (unable to excise ROD21); they were subsequently euthanized in groups of 2 individuals at 1, 3, 6, 24 and 48 hpi. Gastric content, ileum, cecum, colon, mesenteric nodes, peripheral blood, spleen, liver, gallbladder and feces from each individual was taken and CFU count was performed on serial dilution. gDNA and RNA were extracted using traditional Phenol: Chloroform or TRIZOL method and subsequently ROD21 excision frequency and ROD21 gene expression were quantify by qPCR or RT-qPCR. As a negative control, five C57BL/6 mice were inoculated with PBS and one of them was processed at each time of the kinetic. **Results:** Consistently with our previous findings, only WT strain was able to colonize internal organs during early stages of infection. We observed that mutant strains unable to excise ROD21 showed a defect to colonize extraintestinal organs at early times post-infection **Conclusion:** Excision of ROD21 is a relevant process during early stages of infection that plays a role in systemic colonization in mice.

CONICYT, Beca Doctorado Nacional 2014 No. 21140169

Millenium Institute on Immunology and Immunotherapy

**CLP2-55****Los antibióticos ceftazidima e imipenem inducen la expresión de la Beta-lactamasa AmpC, de una bacteria del género *Pseudomonas* aislada en la Antártida**

**Parker S<sup>1</sup>**, Vasquez-Ponce F<sup>1</sup>, Marshall-Gonzalez S<sup>1</sup>, Olivares-Pacheco J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. (Sponsored by Jorge Andrés Olivares Pacheco)

Las beta-lactamasas son enzimas que confieren la resistencia a la mayoría de los antibióticos beta-lactámicos. Entre estas enzimas encontramos la familia de las AmpC, las cuales son inducibles por estos antibióticos. A su vez son el mecanismo de resistencia más importante en el género *Pseudomonas*. Aunque la mayoría de estas enzimas son de origen cromosomal, algunas de ellas se han descrito en plásmidos lo que ha facilitado la diseminación de resistencia a diferentes microorganismos.

En nuestro laboratorio se ha caracterizado una AmpC obtenida de una bacteria aislada en la Antártida, la cepa *Pseudomonas sp* IB20. Esta bacteria posee altos valores de resistencia a los  $\beta$ -lactámicos imipenem (CMI >32 ug/mL), carbenicilina (CMI 8192 ug/mL). Sin embargo uno de los resultados más interesantes fue el aumento de resistencia a ceftazidima, cefalosporina antipseudomonal de segunda generación, cuya CMI fue 1,5 ug/mL. Estos resultados muestran una mayor resistencia que *P.aeruginosa*.

Ante este incremento de resistencia se quiso comprobar la inducción de *ampC* mediante el uso de ceftazidima, carbenicilina e imipenem. Los últimos aumentaron la expresión de este gen 60 y 564 veces, respectivamente.

Con sorpresa pudimos observar que ceftazidima indujo la expresión de AmpC en 2,6 veces en IB20 y a la fecha no han sido descritos resultados similares para *P. aeruginosa*. Por lo tanto, se presume que esta beta-lactamasa tendría un rango mucho más amplio de inductores que los presentados por la proteína de *P.aeruginosa*.

Teniendo en cuenta que las beta-lactamasas de la familia AmpC no son cefalosporinasas, estos resultados sugieren que la beta-lactamasa de IB20 podría actuar como una beta-lactamasa de amplio espectro. Esto confirma la teoría de que los microorganismos ambientales en lugares libres de antibióticos, pueden tener un número considerable y diverso de genes de resistencia, cuya función original podría ser distinta y estaría actuando como mecanismo de resistencia. Proyectos de Investigación de la Dirección de Investigación de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso



**CLP2-56****Potencial aplicación de compuestos sintetizados por bacterias rizosféricas asociadas a la planta Antártica *Deschampsia antarctica* Desv.**

**Pavón A<sup>1</sup>**, Orellana P<sup>1</sup>, Wiese G<sup>1</sup>, Salazar L<sup>1</sup>, Gutiérrez A<sup>1</sup>, Corsini G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile.

Nowadays, we face new challenges regarding conventional anticancer therapies, especially demand for more efficient and selective drugs. A new paths considered in the search for novel drugs resides on an unconventional approach using microorganisms. The Antarctic continent present extreme characteristics and psychrophiles microorganisms have evolved ways to overcome several challenges. In addition, to producing structurally complex secondary metabolites, psychrophiles have also been reported to incorporate unique functional groups in molecules. This study aims to evaluate the ability of rhizospheric bacteria, associated to *Deschampsia antarctica*, to synthesize metabolites that inhibit the proliferation of human cancer cells lines and to identify and characterize bacterial strains associated with the antiproliferative activity. The cytotoxic activities of the filtered supernatants of 60 bacterial strains were tested against two established human cancer cell lines: MKN 45 (gastric adenocarcinoma) and LoVo (colonic adenocarcinoma). The inhibitory effect on these cell lines, measured by MTT cell assay, revealed cytotoxic activity in a concentration-dependent manner of two isolates (IC50 values (µg/mL) were: strain 22: 8.8 and 6.6; strain 34: 7.2 and 4.0; respectively). Antarctic bacteria were identified based on the phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of their 16S rDNA genes. Additionally, the strains were characterized based on morphological, biochemical test (citrate, urease, MIO, LIA and TSI) and enzymatic test (API ZYM system) and were compared with reference strains. The results indicated that both strains were Gram-positives, bacilli and motile. The two strains just ferment glucose and were citrate, urease, indol, production of H<sub>2</sub>S, lysine and ornithine decarboxylase negative. The enzyme profile established that both strains showed alkaline and acid phosphatase activity, esterase (C4), esterase lipase (C8), phosphoamidase, α-glucosidase and acid β-glucosidase. In conclusion, rhizospheric bacteria associated to *Deschampsia antarctica*, produced cytotoxic metabolites and enzymatic bioactive compounds that can be utilized for biomedical and biotechnological applications.

DIP 66-2016



**CLP2-57****Detección de co-infecciones virales con PRV en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) en fase de agua dulce en Chile**

**Peña Rehbein P<sup>1,2</sup>**, Vargas A<sup>1</sup>, Romero A<sup>1</sup>, Enriquez R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología y Patología Acuática, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

El estudio de las infecciones múltiples presenta particular importancia epidemiológica en poblaciones de peces de cultivo. El término coinfecciones hace referencia a la detección de dos o más patógenos virales en el mismo animal. Las coinfecciones virales son un fenómeno común tanto en mamíferos como en peces. Los reportes de coinfecciones en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) incluyen Orthomyxovirus/Togavirus, Aquabirnavirus/Alphavirus, y recientemente se ha descrito a Calicivirus del salmón Atlántico en peces con enfermedad HSMI y CMS en Noruega. Las muestras del estudio fueron extraídas desde 12 centros de cultivo localizadas en las regiones: Metropolitana, del Maule, de La Araucanía, de Los Ríos, de Los Lagos y de Aysén. Los peces fueron seleccionados al azar considerando peces superiores a 50 gramos. La detección de las coinfecciones se realizó por medio de qPCR a partir de muestras de órganos (corazón, riñón) de *Salmo salar* conservadas en RNA-Later®, y procesadas en el Laboratorio de Biotecnología y Patología Acuática de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Austral de Chile. Los resultados demuestran positividad a PRV en las distintas fases de cultivo de salmón del Atlántico, con prevalencia en alevines de 24%, pre-smolt de 48% y en smolt de 52%. Los análisis para la detección de otros patógenos virales prevalentes en el país confirman coinfección en salmón del Atlántico en fase de agua dulce. El estudio revela que la coinfección no siempre tiene carácter de sinergia al analizar los valores de CT de qPCR de los patógenos virales.

CONICYT 21130285 y proyecto FIPA 2014-61

**CLP2-58****Impacto de la maquinaria de metilación de adenosinas (m<sup>6</sup>A) en la expresión génica de VIH-1**

**Pereira-Montecinos C**, Toro-Ascuy D, Dellarossa A<sup>1</sup>, Soto-Rifo R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Sponsored by Ricardo Andrés Soto Rifo)

N<sup>6</sup>-metiladenosina (m<sup>6</sup>A) es la modificación interna más abundante en los ARNm eucariontes, con un importante impacto en diversas etapas de la expresión génica. Esta modificación es dinámica y se encuentra altamente regulada por proteínas escritoras, borradoras y lectoras. El complejo encargado de metilar las adenosinas del ARNm (escritoras), esta compuesto por las metiltransferasas METTL3 y METTL14 junto con WTAP. Las proteínas borradoras corresponden a las demetilinasas FTO y ALKBH5, que remueven específicamente la metilación confiriendo reversibilidad al proceso. Las proteínas lectoras detectan e interpretan m<sup>6</sup>A, y corresponden principalmente a miembros de la familia YTH (YTHDF1, YTHDF2 e YTHDF3). Se ha visto que la interacción de YTHDF1 con sus ARNm blanco favorece la traducción mientras que la unión de YTHDF2 promueve la degradación. Diversos análisis transcriptómicos han revelado la presencia de m<sup>6</sup>A en una gran cantidad de ARNm celulares y virales incluyendo el ARNm completo de VIH-1, sugiriendo una fina regulación de la expresión génica viral a través de la modificación química de este transcrito. En este trabajo analizamos el impacto de los diferentes componentes de la maquinaria de m<sup>6</sup>A en la expresión del ARNm completo de VIH-1. Nuestros resultados indican que la expresión de la poliproteína Gag se beneficia de la presencia de m<sup>6</sup>A en el ARNm completo. Interesantemente, encontramos que pese a estar involucrada en la degradación de los ARNm, la expresión ectópica de YTHDF2 estimula la expresión del ARNm completo, sugiriendo que el reconocimiento de m<sup>6</sup>A por esta proteína lectora modula positivamente la expresión génica viral. Sin embargo, la expresión ectópica de un mutante de YTHDF2 incapaz de unir m<sup>6</sup>A ejerce el mismo efecto que la proteína silvestre, indicando un efecto independiente de m<sup>6</sup>A. Análisis informáticos indican que el dominio N-terminal de YTHDF2 es intrínsecamente desordenado y posee varios sitios de unión a ARN no-canónicos previamente descritos en otras proteínas. Estos resultados indican que la expresión del ARNm completo de VIH-1 se favorece de la maquinaria celular de m<sup>6</sup>A. Nuestros datos también muestran por primera vez un efecto de YTHDF2 independiente de m<sup>6</sup>A que podría estar asociado a sitios de unión a ARN no-canónicos.

FONDECYT 1160176

**CLP2-59****El LPS como determinante de la resistencia a extractos vegetales con actividad antimicrobiana**

**Pérez F<sup>1</sup>**, Rodríguez M<sup>1</sup>, Villagra N<sup>2</sup>, Hidalgo A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Química y Farmacia, Medicina, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Escuela de Medicina, Medicina, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Alejandro Hidalgo)

Frente a la multiresistencia a antibióticos y a que la mayoría de los antibióticos que se disponen datan del siglo pasado, cobra relevancia encontrar nuevos antimicrobianos. Muchos estudios han estado dirigidos a encontrar nuevas sustancias antimicrobianas en plantas. En extractos etanólicos de hoja de vauvó (*Baccharis concava*) y fruto de quintral (*Tristerix corymbosus*) encontramos actividad antibacteriana contra Gram positivos, utilizando un ensayo de difusión en agar. Estas bacterias incluyeron: *S. epidermidis*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus* y *S. pyogenes*. Por el contrario, bacterias Gram negativo (*S. Typhimurium*, *K. pneumoniae* y *A. baumannii*) fueron resistentes a estos extractos. Para entender por qué bacterias Gram negativo son resistentes a la acción antibacteriana de estos extractos, se expuso un set de mutantes de *S. Typhimurium*, incluyendo mutaciones en genes involucrados en síntesis de LPS y genes que desestabilizan la membrana externa, a la acción de los extractos. Mutantes de *S. Typhimurium* en los genes *waaC* y *rfaE*, necesarios para la síntesis del LPS, fueron sensibles a los extractos de *B. concava* y *T. corymbosus*. Mientras que mutantes de *S. Typhimurium* en genes tales como *tolR*, *ompA* and *yibP*, importantes para estabilizar la membrana externa, fueron sensibles sólo al extracto de *T. corymbosus*. Concluimos que el espectro de acción de los compuestos activos de los extractos de *B. concava* y *T. corymbosus* es sobre bacterias Gram positivo y no Gram negativo ya que estas últimas contienen LPS como determinante de la resistencia. Además, las mutaciones en los genes *tolR*, *ompA* and *yibP* producen sensibilidad en *S. Typhimurium* frente al extracto de *T. corymbosus*, lo que podría explicarse por ingreso facilitado o la expulsión deficiente de las sustancias activas. Esta última idea cobra fuerza ya que hay sinergismo entre el inhibidor de bombas de expulsión CCCP y el extracto de *T. corymbosus*.

Fondecyt 11150588

**CLP2-60****Estudio de la formación del Complejo de Adhesión Piscirickettsial (CAP) de *Piscirickettsia salmonis* en conchas de chorito (*Mytilus chilensis*)**

**Pérez M<sup>3</sup>**, Larenas J<sup>3,1</sup>, Larenas C<sup>2</sup>, Moraleta C<sup>3</sup>, Acuña M<sup>3</sup>, Godoy M<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio Nacional de Referencia Para el Diagnóstico de Enfermedades de Especies Hidrobiológicas de la Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Cirujana Dentista Universidad de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. <sup>4</sup>Investigación CIBA.

*Piscirickettsia salmonis* es una bacteria gramnegativa que se encuentra asociada a cuadros clínicos septicémicos con alta mortalidad en salmones de cultivo en Chile. En condiciones experimentales se demostró que el microorganismo produce un sistema de adhesión a ovas, denominado Complejo de Adhesión Piscirickettsial (CAP). Por otra parte, existe evidencia de la presencia de *P. salmonis* en órganos del chorito (*Mytilus chilensis*). El presente estudio tuvo como objetivo establecer la capacidad de unión de *P. salmonis* mediante CAP a la superficie de conchas de choritos, y si ésta era capaz de mantenerse viable infectando células de peces. Como inóculo se utilizó un aislado de campo, cultivado en la línea celular CHSE-214. La bacteria fue obtenida del sobrenadante y titulada en microplacas. El título del inóculo fue  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml. Como desafío se ocuparon trozos de concha de chorito de aproximadamente 0,5 cm<sup>2</sup>, previamente sometidos a un proceso de limpieza. Para el estudio se realizó una cinética de infección, colocando los trozos de concha en una suspensión bacteriana, por 1, 24 o 48 h. Las muestras fueron fijadas en glutaraldehído al 2% en cacodilato de sodio, y luego procesadas para ser fotografiadas en un microscopio electrónico de barrido. Adicionalmente, dos conchas fueron sometidas a 48 h de infección, luego lavadas en tampón PBS (pH= 7,0) estéril y colocadas en una botella de cultivo con la línea CHSE-214 para detectar efecto citopático. Los resultados demostraron la unión de la bacteria mediante CAP a la superficie de la concha desde del primer tiempo (1 h). Además, las conchas infectadas por 48 h, colocadas en CHSE-214, mostraron un efecto citopático alrededor de su borde a partir de los 3 días postinfección. Estos resultados comprueban la adhesión de *P. salmonis* a la superficie de conchas de chorito y la posibilidad de liberación de bacterias infectantes al medio.

Proyecto financiado por Laboratorio Nacional de Referencia Para el Diagnóstico de Enfermedades de Especies Hidrobiológicas de la Universidad de Chile y Salmones Humboldt.

**CLP2-61****Expresión diferencial de *small RNAs* de *Vibrio parahaemolyticus* en respuesta al cambio de sus condiciones de crecimiento**

**Pérez D<sup>1</sup>**, García K<sup>1</sup>, Plaza N<sup>1,2</sup>, Ramírez S<sup>1</sup>, Yáñez C<sup>1</sup>, Peña F<sup>1</sup>, Espejo R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Chile. <sup>2</sup>Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Universidad de Chile. (Sponsored by Fondecyt 11140257)

Las cepas patógenas de *Vibrio parahaemolyticus* tienen la capacidad de adaptarse en respuesta al cambio de las condiciones ambientales. Para que esto ocurra, los mecanismos regulatorios de la expresión génica son esenciales y en este contexto los *small RNAs* (sRNAs) cumplen un papel fundamental. Para dilucidar qué sRNAs juegan un rol en esta adaptación, se realizó un ensayo de expresión diferencial mediante *RNAseq*, comparando la bacteria VpKX crecida en condiciones que simulan parcialmente el ambiente marino (LB 3% NaCl y 12°C) versus condiciones que simulan parcialmente el ambiente intestinal (LB 0.9% NaCl, 37°C, sales biliares 0.04%). Para cada condición el RNA fue extraído y secuenciado en la plataforma Illumina HiSeq2000 por triplicado. Para el análisis transcriptómico se utilizó el alineador BWA junto con el contador de lecturas HTSeq-count y la expresión diferencial se determinó por DESeq2. Este análisis mostró que nueve de los 43 sRNAs descritos fueron diferencialmente expresados. Seis aumentaron su expresión al cambiar a condiciones parciales de ambiente intestinal (3 genes *CsrB*, 6S RNA, *riboswitch* de purina y lisina) mientras que tres (*spot 42*, *RhyB* y *TPP Riboswith*) disminuyeron. Al buscar la función de estos sRNAs en la literatura, se encontró que *spot42* regula la expresión del gen VP1682, el cual contribuye a la citotoxicidad de la bacteria *in vivo*. De acuerdo a esta información, se evaluó la expresión de *spot42* durante la infección. Para ello, se infectó un cultivo de células Caco-2 con la cepa VpKX durante 4 horas a 37°C. Al término de cada hora, se tomó una muestra de RNA desde las bacterias internalizadas y se analizó la expresión génica por qPCR con cuantificación relativa. Los resultados mostraron que *spot 42* disminuyó progresivamente su expresión a las 2, 3 y 4 horas post-infección sugiriendo que esta disminución es necesaria durante el proceso infectivo.

Proyecto Fondecyt 11140257

**CLP2-62****Los procesos de N y O - glicosilación están involucrados en la organización de la pared celular, la adhesión y la virulencia del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea***

Plaza V<sup>1,2</sup>, Castillo L<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Biología, Ciencias, Universidad de La Serena. <sup>2</sup>Biología Fúngica Integrativa y Sintética Núcleo Milenio.

La pared celular que rodea a las células fúngicas es esencial para su supervivencia, ya que proporciona protección contra los agentes químicos y físicos. La pared celular esta compuesta principalmente de una capa interna del esqueleto consta de diversos polisacáridos: alfa-glucanos,  $\beta$ -glucanos, quitina y glicoproteínas. Estas últimas pueden estar N y O glicosiladas y juegan un papel vital en la integridad de la pared celular, la adhesión y la virulencia. En este estudio, se trabajo con dos de genes conservados: El gen *PMT4*, una proteín manosil transferasa que permite la adición de residuos de manosa a sitios de serina/ treonina de las proteínas. Y el gen *PMR1* que codifica para una bomba de iones de la ATPasa Golgi de tipo P responsable del transporte de iones de calcio y manganeso. La hipótesis de que los genes *bcpmr1* y *bcpmt4* juegan un papel importante en la vía de la glicosilación de proteínas fue corroborada con análisis fenotípicos, los cuales mostraron que los mutantes de *bcpmr1* y *bcpmt4* presentan diferencias significativas en la producción de conidios, crecimiento radial y formación de esclerocios. Análisis de azúcares asociados a la pared celular mostró una disminución de los niveles de manano y un aumento en la cantidad de quitina y glucano. Estos cambios fueron acompañados por una hipersensibilidad a los agentes perturbadores de la pared celular: calcofluor White, rojo congo y zimoliasa. El mutante  $\Delta bcpmr1$  mostró una reducción de la virulencia en el tomate (hojas y frutos) y manzana (frutos) y además una reducción en la formación de biopelículas. En conjunto, nuestros resultados ponen de manifiesto la importancia de los genes *bcpmr1* y *bcpmt4* en los procesos de glicosilación de proteínas, la estructura de la pared celular y la virulencia de *B. cinerea*.

Departamento de Biología, Universidad de La Serena.

Núcleo Milenio de Biología Fúngica Integrativa y Sintética NC120043

**CLP2-63****Efecto de los Alcaloides de la Vinca Sobre la Expresión del VIH-1**

**Poblete N<sup>1</sup>**, Velásquez F<sup>1</sup>, Soto-Rifo R<sup>1</sup>, Valiente-Echeverría F<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, ICBM, Medicina, Universidad de Chile.

Seguido a la infección viral, la célula promueve el ensamblaje de Complejos Ribonucleoproteicos (RNPs) llamados Gránulos de estrés (SGs) para crear un ambiente inhóspito para el virus. VIH-1 es capaz de suprimir la formación de estos SGs y favorecer su replicación viral, sin embargo, en condiciones en las cuales VIH-1 no es capaz de suprimir la formación de los SGs, ha tenido consecuencias negativas sobre producción viral y su infectividad. La quimioresistencia (agentes anti-neoplásicos de la clasificación Alcaloides de la Vinca) ha sido relacionada con la generación de estos SGs, promoviendo la supervivencia de la célula. Nosotros evaluamos el efecto de los Alcaloides de la Vinca (Vincristina y Vinblastina) en células U2OS que expresan de manera constitutiva VIH-1, monitoreando la expresión viral mediante ensayos de microscopía confocal y western blot. En el tratamiento con Vincristina, la célula tiende a acumular G3BP1 en forma de agregaciones en el citoplasma y Gag en la periferia, mientras que el tratamiento con Vinblastina, genera la acumulación de Gag en forma de agregados en el núcleo junto con G3BP1. Estos resultados muestran que el tratamiento con estos Agentes anti-neoplásicos podrían tener un efecto potencial sobre la replicación viral.

Fondecyt 11140502



**CLP2-64****Respuesta temprana de *p. Salmonis* a antimicrobianos: niveles de transcrito y eflujo asociado a bombas multidrogas**

**Puente C**<sup>1</sup>, Cartes C<sup>1</sup>, Hausmann D<sup>2,3</sup>, Figueroa J<sup>1,3</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile.<sup>2</sup>Ciencias Básicas, Ciencias, Universidad Santo Tomás.<sup>3</sup>Centro FONDAF, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR) Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Jaime Figueroa Valverde)

En Chile la industria acuícola ha sido afectada por distintos patógenos, así la Piscirickettsiosis o Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS) se ha mantenido dentro de las primeras causas de mortalidad de salmónidos en Chile, repercutiendo en aspectos económico-sociales. A pesar de la implementación de diversos métodos para el manejo de *Piscirickettsia salmonis* no se ha controlado la infección a cabalidad, y la utilización de antibióticos ha generado cepas con distintos grados de resistencia. Por ello el comprender los mecanismos de resistencia resulta útil para desarrollar tratamientos más eficaces. En este trabajo se realizó un análisis *in silico*, utilizando bases de datos en línea y la herramienta *Blast*, se pesquisaron genes putativos para resistencia a antibióticos en 6 cepas de campo, aisladas en el sur de Chile, más la cepa tipo LF-89. Posterior a la selección de los genes, los microorganismos fueron desafiados con 2 concentraciones subletales de Florfenicol y Oxitetraciclina durante 2, 4 y 6 horas. Se identificaron 6 genes probablemente involucrados en resistencia a antibióticos, y se cuantificó los respectivos niveles de transcrito post exposición a antimicrobianos. Además utilizando microdilución en placa se determinó la concentración mínima inhibitoria (CIM) para cada cepa. También se evaluó la capacidad de eflujo de *P. salmonis* frente a 0,5 µg/mL de bromuro de etidio, mediante la razón fluorescencia/Absorbancia a 600nm. Los resultados obtenidos, mostraron que ante una exposición temprana de cepas de campo a antimicrobianos, los niveles de transcritos de genes de resistencia son menores comprando con la cepa LF-89. Sin embargo, esta cepa tipo resulto ser más sensible a Florfenicol y Oxitetraciclina además de presentar una menor capacidad de eflujo para bromuro de etidio. Esto demuestra que las diferentes susceptibilidades de las cepas a los antibióticos son fruto de las distintas capacidades de las bacterias de ingresar o expulsar los antibióticos

Proyectos FONDECYT 1130069 y FONDAP 15110027.

**CLP2-65****Homeostasis de cobre de *Listeria monocytogenes* cultivada en frío.**

**Quesille-Villalobos A M<sup>1</sup>**, Carreño S<sup>1,2</sup>, Maza F<sup>1</sup>, González M<sup>3</sup>, Reyes-Jara A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Recursos Naturales y Matemáticas, Universidad Tecnológica Metropolitana.<sup>3</sup>Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. (Sponsored by Angelica Sofia Reyes Jara)

**Marco teórico:** El cobre es un micronutriente necesario para regular funciones vitales en bacterias. Sin embargo, un exceso de éste puede convertirse en un elemento tóxico. En *L. monocytogenes* (*Lm*), se han descrito diferentes genes relacionados con el manejo del cobre, entre ellos el operón *csor-copA-copZ* y *cutC*. Aunque la función del operón fue estudiada recientemente, su comportamiento a baja temperatura es desconocido. El objetivo fue evaluar el grado de conservación de los genes del operón *csor-copA-copZ*, y determinar los niveles de expresión de estos en *Lm*. Además se evaluó el efecto del frío y del cobre en la proliferación de *Lm*.

**Metodología:** Mediante el uso de herramientas bioinformáticas se evaluó la conservación de los genes relacionados al manejo de cobre en 88 cepas de *Lm* secuenciadas. Además, se seleccionaron 2 cepas locales de *Lm* (List 2-2 y APA 13-2) para evaluar el efecto del cobre en: proliferación en frío, contenido intracelular de cobre y nivel de expresión de los genes de homeostasis por qPCR.

**Resultados:** El análisis *in silico* permitió identificar que *csor-copA-copZ* es conservado en 100% de las cepas, en relación a los otros genes se encontraron variaciones respecto al número y tipo de elementos. A nivel de proliferación a 8°C, se observó que a medida que aumenta la concentración de cobre disminuye el tiempo de generación bacteriana, de manera cepa-dependiente. Por otra parte, el contenido intracelular de cobre fue 10 veces mayor en los cultivos a 8°C versus 30°C. La sobreexpresión de *copA* fue significativamente mayor en la cepa List 2-2, que a su vez presentó una mayor tasa de proliferación en presencia de cobre.

**Conclusión:** El frío aumenta la toxicidad del cobre, sin embargo la capacidad de tolerancia al cobre difiere entre cepas de *Lm* y se relaciona con los niveles de expresión del operón *csor-copA-copZ*.

Beca de Doctorado Conicyt 21130591, Proyecto ENL018/16

**CLP2-66****Invasión celular y resistencia al estrés de *Listeria monocytogenes* aisladas de casos de Listeriosis y alimentos.**

**Toledo V**<sup>1</sup>, Guldemann C<sup>2</sup>, Wiedmann M<sup>2</sup>, Bello H<sup>3</sup>, González G<sup>3</sup>, Moreno- Switt A<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Food Sciences Cornell University. <sup>3</sup>Departamento de Microbiología Universidad de Concepción. (Sponsored by Claudia Lefimil)

**Introducción.** *Listeria monocytogenes* es un patógeno intracelular oportunista transmitido por los alimentos, que puede causar infecciones severas en individuos susceptibles y presenta una alta tasa de mortalidad. Es ubicua y puede sobrevivir bajo condiciones de estrés como el fagolisosoma y el pH del estómago en el hospedero. Estudios sugieren que cepas de *L. monocytogenes* difieren en la capacidad de causar enfermedad en humanos. En Chile, hay pocos estudios acerca de la patogenicidad de esta bacteria por lo que se propone caracterizar la capacidad invasiva a células eucariontes y resistencia al estrés ácido y oxidativo de aislados chilenos, para determinar si existen diferencias y el posible riesgo a la salud de la población. **Metodología.** Se escogieron diez aislados de *L. monocytogenes* provenientes de casos clínicos y alimentos en Chile. La capacidad de invasión se determinó como el porcentaje de bacterias recuperadas a través del ensayo de protección con gentamicina en líneas celulares Caco-2. Para medir la sobrevivencia al estrés oxidativo las cepas se expusieron al Hidroxiperóxido de Cumene (CHP) por 15 minutos y para el estrés ácido se cultivaron en medio BHI pH:2.5 por una hora. En los tres ensayos las células bacterianas se enumeraron mediante recuento de colonias en placa. Los resultados fueron validados estadísticamente mediante ANOVA. **Resultados.** Los ensayos de estrés e invasión revelan que existe heterogenicidad en las diferentes cepas, encontrándose un aislado desde alimento especialmente resistente al estrés y con mayor capacidad de invasión a las células Caco-2 que el resto. **Conclusiones.** Se propone que existen cepas que presentan un mayor riesgo para la salud de la población al ser más virulentas. Un mejor entendimiento de las diferencias de los aislados es crítico para la toma de decisiones y la aplicación de medidas estratégicas en el sistema de producción de alimentos, especialmente de origen animal.

**Financiamiento.** Dirección general de investigación UNAB. Proyecto DI-638-15/I 3140496 y Fondecyt Regular 1140430.

**CLP2-67****Fermentos lácticos con actividad anti-*Listeria monocytogenes* para la elaboración de quesos con inocuidad controlada**

**Troncoso M<sup>1</sup>**, Figueroa A<sup>1</sup>, Cordero N<sup>1</sup>, Figueroa G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile. (Sponsored by Miriam Troncoso)

Las industrias queseras de nuestro país enfrentan diversos desafíos entre los que se encuentran el cumplimiento de las exigencias de calidad del mercado, y por sobre todo entregar productos inocuos a los consumidores. En los últimos años en Chile han ocurrido brotes de *L. monocytogenes* (*Lm*) en donde los quesos se encuentran entre los principales alimentos involucrados y han producido consecuencias graves a la población

**Objetivo:** Seleccionar cepas lácticas locales con actividad anti-*Lm* para producir fermentos que pueden ser incorporados en el proceso habitual de elaboración de quesos artesanales.

A partir de 100 cepas lácticas, se seleccionaron 30 aislados con actividad antagónica contra *Listeria*. De estas, 9 cepas presentaron mayor actividad, las que fueron propagadas y secadas mediante spraydrier y se preparó dos fermentos (F1 y F2). Ambos fermentos (en reemplazo de fermentos comerciales) fueron aplicados en el proceso de elaboración de quesos experimentales sin y con inoculación de *Lm* ( $10^6$  UFC/g) utilizando leche de vaca, oveja y cabra. **Resultados:** Se observó una buena cuajada, masa consistente fácil de moldear y una buena separación del suero con ambos fermentos. Con el F1 se observó una disminución en 2log en 60 días de maduración, mientras que F2 mostró una disminución en el recuento de *Lm* de 1log en los primeros 4 días, 2log al día 18 y ausencia total a los 60 días de seguimiento. La evaluación sensorial de quesos controles con F1 y F2 mostraron una buena aceptación en los parámetros de valoración de aspecto externo e interno y valoración boca-olfatogustativo, no presentándose diferencias significativas entre ambos quesos.

**Conclusión.** Los dos fermentos además de entregar características organolépticas propias de los quesos, demostraron capacidad de ejercer control sobre *L. monocytogenes* y pueden ser incluidos en los sistemas productivos tradicionales. Este esfuerzo constituye una innovación, ya que podría originar un fermento de uso comercial, hoy no disponible en el mercado, que hará posible la elaboración de productos con mayor inocuidad.

Proyecto FIA PYT 2014-0013

**CLP2-68****Análisis de la estructura de nuevos loci fimbriales chaperona-usher de la familia gamma-2 en *Escherichia coli* enterotoxigénica**

**Valdes R<sup>1</sup>**, Cádiz L<sup>2</sup>, Torres A<sup>2</sup>, Mansilla J<sup>2</sup>, Vidal R<sup>2</sup>, Del Canto F<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago De Chile. <sup>2</sup>Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

**Introducción:** Los factores de colonización (CFs) son las adhesinas más comunes de *Escherichia coli* enterotoxigenica (ETEC). La mayoría de estos (15) son pili ensamblados por la vía chaperona-usher (pili CU). Dado que las adhesinas son estructuras idóneas para desarrollar terapias preventivas, el estudio de CFs es necesario para desarrollar terapias contra ETEC. En nuestro laboratorio se identificó 7 loci de pili CU de la familia gamma-2, en 23 cepas ETEC, dentro de 35 que habían resultado negativas en la detección de las adhesinas conocidas. Por lo tanto, estos podrían ser nuevos determinantes de adherencia. En este trabajo se reportan los resultados de la caracterización detallada de estos loci y la búsqueda de homólogos en genomas de otras bacterias patógenas.

**Metodología:** Se utilizó ORF finder para identificar marcos de lectura. Se alineó las secuencias utilizando Clustal Omega, Ugene, Promals, Skyling y Easyfig. Se realizó un screening en la base de datos Ensembl bacteria utilizando large scale-blast score ratio.

**Resultados:** Los siete loci identificados (*crs*, *cma*, *cnm*, *ctg*, *gep*, *gte* y *gtt*) portan siete genes que serían suficientes para codificar una estructura funcional, incluyendo un gen de usher, tres de chaperonas y tres de subunidades estructurales. En seis loci se identificó dos genes de recombinasas que podrían regular la expresión de los genes fimbriales. La mayor divergencia entre loci estaría determinada por los genes de subunidades estructurales mayores. La búsqueda de secuencias similares en la base Ensembl Bacteria, en base a genes de usher, permitió identificar posibles homólogos en genomas de *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC), *Salmonella entérica* serovar Schwarzengrund y *Salmonella entérica* serovar Heidelberg. **Conclusión:** Loci de pili CU gamma-2 son frecuentes dentro de cepas ETEC, tal como los previamente identificados en las familias alpha y gamma-3. Esto los proyecta como posibles blancos para el desarrollo de futuras terapias contra ETEC.

Proyecto Fondecyt 11150966

**CLP2-69****Variaciones del proteoma en respuesta a radiación UV en una bacteria aislada de un humedal altoandino del Altiplano Chileno bajo tratamientos *in situ* y luz artificial.**

**Perez V**<sup>1,2</sup>, Kurte L<sup>2,1</sup>, Hengst M<sup>2,1</sup>, Dorador C<sup>3,1</sup>, Jeffrey W H<sup>4</sup>, Wattiez R<sup>5</sup>, Molina V<sup>6</sup>, Matallana-Surget S<sup>7</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería Universidad de Chile.<sup>2</sup>Laboratorio Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento Química y Farmacia, Universidad Católica Del Norte.<sup>3</sup>Laboratorio Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad De Antofagasta.<sup>4</sup>Center for Environmental Diagnostics and Bioremediation University of West Florida.<sup>5</sup>Research Institute of Biosciences, Proteomics and Microbiology Laboratory University of Mons.<sup>6</sup>Departamento de Biología Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación.<sup>7</sup>Department of Biological and Environmental Sciences, School of Natural Sciences, University of Stirling.

Salar de Huasco, (3800 m.s.n.m) es un humedal altoandino (Chile), el cual presenta condiciones ambientales extremas y uno de los niveles de radiación solar registrados más altos del mundo ( $>1000 \text{ Wm}^{-2}$ ). La radiación UV es uno de los factores abióticos más dañino que afecta a los microorganismos tanto a nivel celular como de comunidad, causando daño a biomoléculas importantes como lípidos, ADN y proteínas. Bacterias que habitan ambientes extremos permanentemente expuestas a radiación solar dañina, han desarrollado diferentes estrategias para enfrentarse al estrés producido por radiación UV. Notablemente, existe una amplia diversidad de respuestas frente a la radiación ultravioleta en distintas bacterias estudiadas en aislamiento en laboratorio. Por lo tanto, investigaciones enfocadas en la respuesta a la radiación UV de microorganismos claves es de gran importancia, debido a que su respuesta puede afectar la comunidad microbiana completa y determinar la resiliencia del sistema ecológico a condiciones cambiantes. En este contexto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la respuesta a radiación UV a nivel celular, usando una cepa bacteriana, *Rhodobacter sp.*, aislada desde el Salar de Huasco. Para esto, una innovativa aproximación experimental fue desarrollada para evaluar exhaustivamente las proteínas diferencialmente reguladas en células bacterianas bajo distintas fuentes de radiación (*in situ versus* lámparas monocromáticas), utilizando proteómica de alto rendimiento. Los resultados obtenidos indicaron que las proteínas involucradas en la estrategia de defensa contra el daño oxidativo fueron originales en *Rhodobacter sp.*, involucrando el transporte y síntesis de osmoprotectores y un sistema de replicación y reparación de ADN independiente de Rec-A. Por lo tanto, demostrando una fuerte adaptación a condiciones ambientales extremas, dañinas y cambiantes

Beca Doctorado Nacional Conicyt, Fondecyt N° 1140179, Fondecyt N° 1140356, CeBiB FB0001

## COMUNICACIONES LIBRES PANELES III

### CLP3-1

#### **Búsqueda de bacterias antárticas con actividad antagonica sobre cepas de *Salmonella* spp.**

**Cid N<sup>1</sup>**, Morales-Rivera M F<sup>1</sup>, Jara D<sup>1</sup>, Domínguez M<sup>1</sup>, Vergara L<sup>2</sup>, Bello H<sup>1</sup>, González-Rocha G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Ciencia, Universidad San Sebastián, Concepción.

*Salmonella* spp. es una enterobacteria que es considerada como uno de los principales agentes etiológicos de enfermedades transmitidas por alimentos, provocando decenas de millones de casos a nivel mundial. Desde los años '90 se ha evidenciado la emergencia de cepas resistentes a antibióticos, ocasionando un problema de salud pública. Por otra parte, nuestro grupo de investigación y otros, a nivel mundial, han informado el aislamiento de bacterias antárticas productoras de metabolitos con actividad antagonica sobre bacterias Gram negativas y positivas. El objetivo de este trabajo fue pesquisar bacterias antárticas con actividad inhibitoria contra *Salmonella* spp.

Se incluyó 90 aislados antárticos que fueron cultivados en agar R<sub>2</sub>A a 15 °C por 10 días, obteniéndose dos discos de agar (6 mm), que fueron depositados sobre una placa de agar Müller-Hinton sembrada con 1x10<sup>8</sup> UFC/mL de *Salmonella* Enteritidis o con *Salmonella* Typhi, e incubadas por 24 h a 37 °C. La actividad antagonica fue detectada observando un halo de inhibición alrededor de los discos de agar.

Se aisló una cepa (1,1 %) con actividad antagonica (M52-112-1) contra ambas especies de *Salmonella*. Esta cepa correspondió a una colonia con pigmento violeta que a la tinción de Gram se observa como bacilo Gram negativo. Estos resultados preliminares indican que en cepas bacterianas Antárticas podemos encontrar nuevos compuestos activos contra *Salmonella* spp., ofreciendo un potencial con fines biotecnológicos.

Proyecto INACH RT\_06-12



**CLP3-2*****Galleria mellonella* como modelo para el estudio de la patogenicidad de *Escherichia coli* adherente invasiva (AIEC)**

**Gutiérrez D<sup>1</sup>**, Vidal G<sup>2</sup>, Aballay E<sup>2</sup>, Del Canto F<sup>3</sup>, Vidal R<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Microbiología, Medicina, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Sanidad Vegetal, Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Microbiología y Micología, Medicina, Universidad de Chile.

*Escherichia coli* adherente invasiva (AIEC) es un patotipo de *E. coli* que incluye cepas capaces de adherir/invadir células intestinales y de sobrevivir y replicar al interior de macrófagos. AIEC ha sido aislada frecuentemente desde pacientes con enfermedad de Crohn (EC), una enfermedad inflamatoria crónica del tracto gastrointestinal, por lo que se ha postulado que la virulencia de AIEC podría determinar, al menos en parte, el desarrollo de la EC.

En la investigación de la virulencia de patógenos humanos, los modelos animales han sido una herramienta indispensable. Sin embargo, el gran número de animales requerido y los costos que representan han llevado a la búsqueda de modelos *in vivo* alternativos. Entre ellos destacan la ameba *Dictyostelium discoideum*, el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y el pez cebra (*Danio rerio*). Sin embargo, ninguno de estos modelos es posible de mantener a 37 °C, la temperatura fisiológica humana y a la que las bacterias expresan gran parte de los factores de virulencia. En este trabajo se evaluó la utilización de larvas de *Galleria mellonella* (polilla de la cera) como modelo para estudiar la infección de AIEC. *G. mellonella* es un invertebrado simple que ha sido utilizado para el estudio de patógenos humanos y los resultados reportados hasta ahora sugieren una correlación con la patogenicidad apreciada en modelos murinos. Nuestros resultados indican que larvas de *G. mellonella* son susceptibles a la infección por AIEC, y la mortalidad de las larvas es dosis dependiente (dosis 10<sup>3</sup>-10<sup>7</sup> UFC/larva, letalidad 100% con 10<sup>6</sup> UFC/larva, LD<sub>50</sub>=entre 10<sup>5</sup>-10<sup>4</sup>), en contraste a lo que ocurre con una cepa no patógena de *E. coli* HB101, que no ocasionó muerte en dosis de infección de 10<sup>6</sup> UFC/larva. Este es el primer trabajo donde se propone *G. mellonella* como modelo de infección para el estudio de AIEC.

FONDECYT 1120809, CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2014-21140522

Proyecto FONDECYT Iniciación 2015 N° 11150966

Proyecto FONDECYT Regular 2016 N° 1161161

**CLP3-3****Análisis funcional de genes con probable actividad lítica incluidos en una bacteriocina tipo cola de fago identificada en el genoma de la cepa antártica *Pseudomonas* sp. KG01**

Pavlov M S<sup>1</sup>, Marshall S<sup>1</sup>, Olivares J<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>2</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Bacteriocinas-tipo-cola-de-fagos son agentes proteicos de virulencia/competencia altamente específicos en su acción antimicrobiana, que pese a encontrarse ampliamente presentes en el género *Pseudomonas*, hasta la fecha, no han sido identificadas en especies antárticas. Son codificadas por un clúster de genes que suele incluir, junto con las proteínas estructurales, una holina y una endolisina, responsables de la disrupción de la membrana bacteriana en el proceso de liberación de las bacteriocinas desde el interior de las células productoras. Por dicha función, estas enzimas líticas se han propuesto como agentes antimicrobianos alternativos a los antibióticos, ya que bajo ciertas condiciones pueden actuar autónomamente desde fuera de la célula provocando las mismas consecuencias antes señaladas. En trabajos previos hemos identificado un clúster de genes que codifica para una probable bacteriocina-tipo-cola-de-fago en la cepa antártica KG01, por ello el objetivo del presente estudio fue evaluar la funcionalidad de los genes líticos presentes en dicho clúster.

El producto de la expresión recombinante de *hol* (Holina) no pudo ser detectado por SDS-PAGE en ninguna de las condiciones de expresión evaluadas, no obstante existe un peak en la expresión relativa del gen a los 20 min post inducción que luego decae rápidamente, situaciones que se correlacionan con las evaluaciones de crecimiento y viabilidad del cultivo de *E. coli* pET28a-*hol* y que dan indicios de la toxicidad del producto recombinante y por ende de la correcta funcionalidad del gen. Por otra parte, la endolisina recombinante fue expresada exitosamente en el sistema pET28a/*E. coli*, generando un producto más soluble a baja temperatura, el cual presentó actividad muralítica bajo ciertas condiciones, contra células permeabilizadas de *P. aeruginosa* PAO1 y *P. fluorescens* ISP93/07. A partir de dichos resultados es posible confirmar la funcionalidad lítica de ambos genes y preliminarmente hipotetizar respecto a la correcta funcionalidad de la totalidad del clúster.

Beca de apoyo tesis de posgrado INACH (DT\_02-13) y Beca de doctorado nacional CONICYT (folio 21110281)

**CLP3-4****Condiciones de cultivo *in vitro* para la producción de microesclerocios por el hongo comestible silvestre *Morchella* spp.**

Parra D<sup>1</sup>, Cid H<sup>1</sup>, **Chávez D<sup>1</sup>**, Machuca A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnologías, Universidad de Concepción. (Sponsored by Viviana Cachicas )

*Morchella* spp. es un hongo comestible silvestre muy apreciado por su sabor y propiedades nutraceuticas. Su alto valor comercial lo ubican sólo por debajo de las trufas (*Tuber*), considerados los hongos silvestres comestibles más caros del mundo. Muchos aspectos del ciclo de vida de *Morchella* spp. son aún desconocidos y esto ha impedido la obtención de ascocarpos o cuerpos de fructificación bajo condiciones controladas. Evidencias demuestran que la producción de esclerocios (estructuras de resistencia) es una etapa clave de su ciclo de vida, previa a la fructificación. Por esta razón, se evaluaron condiciones de cultivo *in vitro* para la producción de microesclerocios de aislados de *M. frustrata* y *M. elata*. La producción de microesclerocios fue evaluada mediante el método de división de placa que consiste en rellenar la mitad de una placa con un medio pobre (agua-agar) y la otra mitad con un medio enriquecido como extracto de malta (EMA), EMA+peptona (EMA-P) y medio M25. Bajo estas condiciones se evaluaron la velocidad de crecimiento radial, número de microesclerocios y tiempo de aparición, y cambios morfológicos del micelio durante la formación de microesclerocios. *M. elata* presentó las mayores velocidades de crecimiento, principalmente en el medio pobre (6-9 mm/día), y produjo la mayor cantidad de microesclerocios (99) en EMA y EMA-P, los que comenzaron a aparecer a los 11 días. El único medio donde se observó producción de microesclerocios por *M. frustrata*, en cantidad muy reducida (15), fue EMA-P. En M25 se observó gran desarrollo micelial, pero sin microesclerocios. La evaluación del efecto de iones Cu (II) como estimulante de la producción de microesclerocios se encuentra en desarrollo. Estos resultados constituyen la etapa previa a la producción de esclerocios en sustratos lignocelulósicos, contribuyendo a la búsqueda de alternativas a la obtención de ascocarpos de *Morchella* spp. bajo condiciones controladas.

Fondo de Investigación del Bosque Nativo FIBN 077/2013 (CONAF), Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Universidad de Concepción.

**CLP3-5****Cambios en los niveles de expresión de genes de la vía de síntesis de histidina y cisteína en *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 y 53993 sometidas a cobre**

**Recalde A<sup>1</sup>**, Oetiker N<sup>1</sup>, Jerez C A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Sponsored by Carlos A. Jerez)

*Acidithiobacillus ferrooxidans* es una bacteria acidófila quimiolitotrofica capaz de utilizar el ion ferroso, especies reducidas de azufre o sulfuros metálicos como fuente de energía. Es de importancia en procesos biomineros y presenta una alta resistencia a altas concentraciones de metales. Mediante proteómica cuantitativa se han detectado cambios en los niveles de varias proteínas posiblemente involucradas en la resistencia a cobre (Cu) en este acidófilo. Hemos reportado previamente que en la cepa de *A. ferrooxidans* 23270 crecida a 40 mM Cu aumentan los niveles de las enzimas involucradas en la biosíntesis de histidina y cisteína. Al contrario, la cepa 53993 que es mucho más resistente a Cu que la 23270, no mostró cambios significativos en las mencionadas enzimas. En el presente trabajo se midieron los niveles de expresión transcripcional mediante PCR en tiempo real de los genes *hisB*, *hisD*, *cysJ* y *cysN*. Todos ellos aumentaron significativamente sus niveles en presencia de 40 mM Cu en la cepa ATCC 23270, confirmando un efecto de la presencia del metal tanto a nivel transcripcional como traduccional. Nuestros resultados sugieren que Cys e His tendrían un papel en la resistencia al metal en la cepa 23270, efecto que no se observó en la cepa 53993. Esta diferencia se debe posiblemente a que la cepa 53993 posee determinantes de resistencia a Cu adicionales en su genoma. El aumento en las vías de síntesis de la cisteína puede relacionarse con la necesidad de generar glutatión para la respuesta al estrés oxidativo generado por Cu. Es posible que la histidina, no solo forme parte de proteínas que unen Cu y cuyos niveles aumentan en presencia del metal, sino que la His libre podría tener un papel más directo, uniéndose al metal y evitando el daño celular, como se ha postulado en humanos, levaduras y plantas.

Financiado por FONDECYT 1150791

**CLP3-6****Caracterización bioquímica de la microcina L492, un nuevo péptido antibacteriano codificado en el cluster de producción de microcina E492**

Reid R<sup>1</sup>, Marcoleta A E<sup>1</sup>, Lobos P<sup>1</sup>, Monasterio O<sup>1</sup>, Lagos R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Biología Estructural y Molecular Universidad de Chile.

La microcina E492 (MccE492) es un péptido antibacteriano producido por *Klebsiella pneumoniae*, el cual forma fibras amiloides modulando así su actividad bactericida, además de presentar actividad antitumoral sobre cultivos de células neoplásicas y sobre tumores *in vivo* en modelos murinos. El sistema productor de la microcina E492 (MccE492), codificado en un segmento cromosómico de 13 kb, contiene los genes implicados en su síntesis, maduración, exportación e inmunidad, además de varios ORFs de función desconocida. Dicho segmento se ubica en una isla genómica altamente prevalente en cepas hipervirulentas, la que se ha propuesto tendría un rol relevante en la patogenicidad de esta especie. Entre los genes de función desconocida codificados en el cluster se encuentra *orfL*, el cual según resultados recientes obtenidos en nuestro laboratorio codificaría un segundo péptido antibacteriano denominado microcina L492 (MccL492). Mediante la utilización de un plasmidio que contiene el *cluster* completo de producción de MccE492 pero que carece del gen estructural de ésta, se logró purificar la MccL492 empleando cromatografía de fase reversa y elución con un gradiente de acetonitrilo, con el objetivo de efectuar su caracterización bioquímica. Una vez purificada, se evaluó su cinética de inactivación a distintas temperaturas, su resistencia a la denaturación térmica, y su resistencia a la inactivación por pHs extremos, corroborando que se trata de un péptido altamente resistente a este tipo de condiciones. Adicionalmente, se demostró que esta proteína tiene una alta tendencia a la agregación en medio acuoso, la cual se correlacionó con la pérdida de su actividad bactericida. Trabajo financiado por los proyectos Fondecyt Postdoctorado 3140496 y Fondecyt Regular 1140430.

**CLP3-7****Evaluación de la actividad quelante de As de sideróforos producidos por bacterias ambientales.**

**Retamal G<sup>1</sup>**, Mehnert M<sup>2</sup>, Schwabe R<sup>2</sup>, Schlömann M<sup>2</sup>, Tischler D<sup>2</sup>, Zapata C<sup>2</sup>, Levicán G<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Centro Ecologico Interdisciplinario, Química, TU Bergakademie Freiberg. (Sponsored by Gloria Levicán)

El arsénico es un metaloide ubicuo en la corteza terrestre, pero puede presentarse como contaminante debido a las actividades de la industria minera y metalúrgica. Es un elemento tóxico, que en su forma reducida es capaz de unir los grupos sulfhidrilos e hidroxilo de las proteínas, mientras que en su forma oxidada compite por el fosfato, y por lo tanto, impide la generación de ATP por parte de los seres vivos. Hoy, la Organización mundial de la salud (OMS) ha puesto límites en la cantidad aceptable del metaloide que puede estar presente en el agua potable, pero algunos países sobrepasan los límites recomendados, por lo tanto, la biorremediación de aguas contaminadas es aún una tarea pendiente. Existen bacterias capaces de vivir en ambientes con altos niveles de arsénico, esto es debido a que poseen mecanismos de tolerancia codificados en su genoma. Éstos le confieren a las bacterias la capacidad de reducir, oxidar, metilar y expulsar el metaloide con el objetivo de disminuir su toxicidad. Los sideróforos, metabolitos quelantes de hierro producidos por las bacterias, podrían ser parte de un mecanismo con un importante rol en la resistencia al arsénico. Se ha descrito que los sideróforos tienen la capacidad de unir diversos metales, por lo que su capacidad quelante frente al As debe ser evaluada. En este trabajo se evaluó la capacidad quelante de arsénico de los sideróforos producidos por bacterias aisladas de zonas contaminadas. Además, se estandarizó un ensayo para evaluar la actividad quelante de estos metabolitos. Como resultado, se logró aislar bacterias de los géneros *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Kocuria* y *Planobacterium*, a partir de agua contaminada con As. Para la detección de sideróforos quelantes de arsénico se diseñó una versión modificada del ensayo Cromo azurol S (CAS) utilizando As(III), donde se detectó que los sideróforos producidos por las cepas estudiadas poseen la capacidad de unir arsénico con gran eficiencia (82-123%). Estos resultados revelan que el ensayo es útil para detectar actividad quelante de As y que las bacterias estudiadas producen sideróforos con capacidad quelante de arsénico. Se discutirá sobre las posibles implicancias biotecnológicas de estos hallazgos.

Fondecyt 1120746, Fondecyt 1150834, Beca Conicyt (GR)

**CLP3-8****Respuesta de poblaciones bacterianas de suelos fríos de la Patagonia y Antártica marítima al aumento de temperatura.**

Oyarzúa P<sup>1</sup>, Gerding M<sup>1</sup>, **Reyes M**<sup>2</sup>, Machuca A<sup>2</sup>, Cordova C<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad De Concepción.<sup>2</sup>Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnologías, Universidad de Concepción.<sup>3</sup>Departamento de Suelos y Recursos Naturales, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción.

Los microorganismos del suelo desempeñan un relevante papel en los ciclos de nutrientes y son indicadores de perturbación en ecosistemas susceptibles al cambio climático como la Patagonia y Antártica. En este estudio se evaluó el efecto del aumento de temperatura en la composición poblacional de bacterias de en suelos de la Patagonia Chilena y Antártica marítima. Las muestras de suelo se colectaron en una estepa (Coyhaique Alto), en dos bosques de *Nothofagus* (Reserva Magallanes y Las Nieves) y en la base científica Arctowski (Antártica marítima). Submuestras de 10 g fueron incubadas a 0, 5, 10 y 20°C por 42 días, luego se extrajo ADN y se amplificó el gen 16S rRNA utilizando los partidores 8F y 1492R y luego un PCR anidado para la zona V3 utilizando los partidores 341F y 534R. La electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE) se realizó con un gradiente de 30-70% y los geles se analizaron para determinar variaciones en la composición poblacional. Para todos los suelos se observó un aumento en los individuos por grupo genético. En algunos casos se observó la aparición de bandas (OTUs) con el aumento de temperatura. En los suelos de estepa la composición específica de la muestra inicial fue similar a aquella obtenida a 0°C. En los suelos de bosque, la riqueza específica varió a medida que se incrementó la temperatura en todas las profundidades de suelo, incluso la incubación a 0°C significó un cambio en la estructura poblacional del suelo de Las Nieves. El índice de Shannon-Weaver ( $H'$ ) mostró un aumento de la riqueza de especies a temperaturas > 5°C. En la mayoría de las muestras se alcanzó la mayor diversidad a 20°C. Los resultados mostraron que el aumento de temperatura por sobre los 5°C aumentó la riqueza y diversidad de bacterias en suelos fríos de la Patagonia chilena. Los análisis de los suelos antárticos se encuentran aún en desarrollo.

FONDECYT 1140441; VRID 213.123.013-1AP (Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo, Universidad de Concepción).



**CLP3-9*****Campylobacter* termotolerantes en las canales de pollo obtenidas en mataderos y sus puntos de venta**

**Ribeiro M<sup>1</sup>**, Morais M<sup>2</sup>, Feistel J<sup>3</sup>, Lamaro-Cardoso J<sup>4</sup>, Borges L<sup>1</sup>, Campos M<sup>1</sup>, André M<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Faculdade de Nutrição, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás.<sup>2</sup>Escola de Agronomia, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás.<sup>3</sup>Escola de Veterinária, Escola de Veterinária, Escola de Veterinária.<sup>4</sup>Instituto de Patologia Tropical E Saúde Pública, Instituto de Patologia Tropical E Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás.

Infections caused by *Campylobacter* sp. result in campylobacteriosis. This disease is the main cause of diarrhea in the United States and European Union. The most common reservoirs of this microorganism are chickens and the consumption of their meat, raw or undercooked, is the main source of contamination to humans. The most prevalent species involved in infections are *C. jejuni*, *C. coli* and *C. lari*. Some critical points in the slaughter and handling can lead to contamination of chickens. The aim of this study was to determine the prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in chicken carcasses obtained in central-west region of Brazil. Twelve cooled carcasses samples were collected in abattoirs located within a radius of 60 km from the capital, Goiânia, and 16 samples of frozen and chilled carcasses were collected at retail outlets of these same abattoirs, from May to September/2015. For the molecular identification, conventional Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was performed to detect the *hipO* gene (*Campylobacter jejuni*), and the *glyA* gene (*C. coli* and *C. lari*). It was found a contamination prevalence of 8.3 % (n = 1) of *C. coli* in chilled samples of slaughterhouses. In samples obtained from sales points the prevalence of *C. jejuni* was 25.0 % (n=4). No *C. lari* was detected in the evaluated samples. The results show higher contamination in retail, suggesting that this difference may be due to cross-contamination as a result of improper storage and exposure conditions. The presence of these bacteria in chickens poses a risk of gastroenteritis outbreaks and also shows the need for greater intervention at different points of the production chain and sales. The prevalence found in this study reinforces the need to establish legal standards for *Campylobacter* detection and tolerance in animal products in Brazil.

**CLP3-10****Detección y aislamiento de *Azospirillum* spp. putativos asociado a la rizósfera y endoriza de plantas de trigo de un andisol del sur de Chile**

**Rilling J<sup>1</sup>**, Hernandez S<sup>1</sup>, Inostroza N<sup>1</sup>, Jorquera M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN-UFRO) Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera.

*Azospirillum* represents one of the most utilized plant growth-promoting bacteria (PGPB) genera in biofertilizer formulations. This genus possess several PGPB traits, such as N-fixation, indole-3-acetic (AIA) production, endosphere colonization, and P-solubilization. *Azospirillum* representatives have been described as colonizers of cereals, soybean, sugarcane, and tomato, as well as isolated from countries such as Brazil, Mexico, Japan and others. In developed countries, biofertilizers market have experienced an exponential growth, however, it has been demonstrated that native PGPB can promote growth with more efficiency when compared with standard biofertilizer formulations. In this context, *Azospirillum* related studies in Chile are scarce in terms of isolation and inoculation. For *Azospirillum* isolation, three wheat samples (rhizosphere, and roots) were collected from Maquehue experimental station, Universidad de La Frontera. Rhizosphere was sonicated in sterile distilled water. Root samples were surface disinfected, macerated and further homogenized in 1.5 mL of 0.85% NaCl. Serial dilutions were performed and plated on NM-1 and LB culture media to determine total CFU number. In parallel, samples were inoculated on semisolid NFb. Pellicle formation on NFb were subcultured and then striked on Congo red malic acid (CRMA). Scarlet red, flat, large bright colonies were then purified and PCR was performed using Azo494R-Azo796R specific primer set. In addition, 1 g of root and rhizosphere were separated for total DNA isolation and also tested through PCR.  $10^9$  CFU g<sup>-1</sup> were obtained for both sample types. Visually, 24 and 16 putative *Azospirillum* spp. isolated were obtained for rhizosphere and endorhiza samples, respectively. Of them, only 14 isolated presented amplicons for the selected primer set applied on this study. From total DNA isolations, no amplicons were observed. This study revealed the presence of putative *Azospirillum* spp. on andisols, which has never been described. Complementarily, the applied methodology have demonstrated to be effective on samples from southern Chile. However, the detection of *Azospirillum* on complex soil and root DNA samples needs to be further standardized using a more sensitive technique (such as qPCR).

Authors acknowledge to: FONDECYT project no. 1120505 and 1160302. CONICYT Scholarship no. 21150794 and CDFRO1204.

**CLP3-11****Análisis del rol de la maquinaria de metilación de adenosinas (m<sup>6</sup>A) en la expresión génica celular y viral**

**Riquelme S<sup>1</sup>**, Pereira C<sup>1</sup>, Dellarossa A<sup>1</sup>, Soto-Rifo R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La N<sup>6</sup>-metiladenosina (m<sup>6</sup>A) es la modificación interna más abundante en los mRNA de células eucariontes. Esta modificación es dinámica y está finamente regulada por el complejo metiltransferasa METTL3/METTL14/WTAP (escritores de m<sup>6</sup>A), demetilinas FTO y ALKBH5 (borradoras de m<sup>6</sup>A) y los miembros de la familia YTH (lectoras de m<sup>6</sup>A). Estudios transcriptómicos han revelado la presencia de m<sup>6</sup>A a lo largo de miles de mRNAs celulares en donde su presencia ha sido relacionada con la regulación de diversas etapas post-transcripcionales del metabolismo del mRNA incluyendo el splicing, exportación nuclear, traducción y degradación. Las metilaciones presentes en la región 5'-UTR de los mRNAs han sido asociadas a un mecanismo de inicio de la traducción independiente de cap utilizado principalmente en situaciones de estrés. Estudios recientes han determinado el patrón de m<sup>6</sup>A a lo largo del ARNm completo de VIH-1, incluyendo la región 5'-UTR. Modificaciones presentes en el extremo 3' del ARNm completo viral han sido implicadas tanto en la exportación nuclear como en la acumulación de este transcrito viral. Sin embargo, la función de las metilaciones presentes en la región 5'-UTR no ha sido estudiada en profundidad. El inicio de la traducción del ARNm completo en VIH-1 esta finamente regulado por la 5'-UTR ya que esta posee una estructura cap además de un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES). En este trabajo se busca estudiar el rol de la maquinaria de metilación m<sup>6</sup>A (escritoras, borradoras y lectoras) en la síntesis de proteínas comandada por la 5'-UTR del ARNm completo de VIH-1 y de la b-globina humana. Los datos obtenidos sugieren que ciertos componentes de la maquinaria de metilación del mRNA regulan la síntesis de proteínas a nivel global, mientras otros componentes tienen una acción específica regulando positivamente la expresión asociada a la 5'-UTR de VIH-1.

Beca CONICYT 21160818

**CLP3-12****Estudio comparativo de los mecanismos de tolerancia a NaCl en microorganismos ferrooxidantes**

Rivera-Araya J<sup>1</sup>, Levicán G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

A nivel industrial la biolixiviación de calcopirita para la recuperación de cobre presenta complicaciones que hacen el proceso ineficiente. Un problema es la denominada "capa de pasivación", producida por la acumulación de azufre sobre la superficie del mineral, que inhibe el crecimiento de los microorganismos biolixivantes. Para evitar este problema se ha propuesto utilizar ión cloruro. Por otra parte, el proceso requiere de grandes cantidades de agua, pero como la disponibilidad de esta fuente es escasa se plantea la utilización de agua de mar (concentración de NaCl ~0.5 M). Sin embargo, la presencia del ión cloruro es perjudicial para los microorganismos biolixivantes. *Leptospirillum* spp., es una bacteria altamente abundante en los ambientes biolixivantes ácidos en la que ha establecido la existencia de algunos mecanismos canónicos de respuesta a estrés salino, tales como transportadores de potasio, y biosíntesis de ectoína y trehalosa. En este trabajo se realizó un análisis bioinformático comparativo en base a los genomas completos de microorganismos ferrooxidantes, acidófilos y aeróbicos. Además, se evaluó el efecto del NaCl en el crecimiento de *Leptospirillum ferriphilum*, *Leptospirillum* CF-1 y *Acidithiobacillus ferrooxidans*, en presencia y ausencia de ectoína o trehalosa. El resultado del análisis bioinformático permitió establecer que a diferencia de las Proteobacterias que sólo cuentan con la información genética suficiente para sintetizar transportadores de K<sup>+</sup>, las bacterias de los filos Nitrospirae y Firmicutes poseen genes involucrados en la síntesis de transportadores de K<sup>+</sup>, además de las rutas biosintéticas de ectoína y trehalosa. En línea con los resultados bioinformáticos, se observó que *L. ferriphilum* y *L. CF-1* (filo Nitrospirae) demostraron ser más tolerante al NaCl que *A. ferrooxidans* (filo Proteobacteria). Además se observó que la adición de ectoína 0,5-1 mM a los cultivos de *Leptospirillum* spp., estimula el crecimiento en presencia de NaCl 100 mM. Contrario a esto, la ectoína no ejerció efecto sobre el crecimiento de *A. ferrooxidans*. Estos resultados sugieren que la ectoína podría jugar un papel importante frente a la tolerancia a cloruro en *Leptospirillum* spp, confiriéndoles ventajas adaptativas frente a *Acidithiobacillus* spp.

FONDECYT 1120746 y 1150834, Beca CONICYT (JR)

**CLP3-13****Prevalencia y caracterización de *Escherichia coli* productoras de toxinas del tipo Shiga (STEC) en carne molida del Gran Santiago**

**Rivera D<sup>1</sup>**, Jimenez M F<sup>1</sup>, Antivero P<sup>1</sup>, Toro M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. (Sponsored by Angélica Reyes Jara)

**Introducción:** *Escherichia coli* productor de toxina Shiga es un patógeno emergente transmitido por alimentos, especialmente carne molida y productos cárnicos crudos o insuficientemente cocidos. El patógeno causa brotes y casos esporádicos de diarreas con y sin sangre, colitis hemorrágica y/o síndrome hemolítico urémico. **Metodología:** Se recolectaron 204 muestras de carne molida de vacuno en carnicerías y supermercados del gran Santiago desde las zonas norte, sur, oriente y poniente, entre Marzo y Julio de 2016. Las muestras se sometieron a un tamizaje a través de PCR para los genes *stx*<sub>1</sub> y *stx*<sub>2</sub>. Luego, colonias individuales sospechosas a *E. coli* se confirmaron a través de PCR para los genes *stx*<sub>1</sub> y *stx*<sub>2</sub> y pruebas bioquímicas para *E. coli*. Las cepas aisladas se caracterizaron para la presencia de los factores de virulencia intimina (gen *eae*) y hemolisina (gen *hlyA*), junto con la detección de los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121, O145 (grandes seis) y O157. **Resultados:** Un 12,25% (25/204) de las muestras resultaron positivas a STEC; de ellas un 56% (14/25) provenía de supermercados y un 44% (11/25) de carnicerías. La zona con mayor prevalencia fue la norte (36%; 9/25), seguida por la oriente (28%; 7/25), sur (20%; 5/25) y poniente (16%; 4/25). Se recuperaron 42 cepas de STEC, de las cuales un 12% contenía solo *stx*<sub>1</sub>, 76% solo *stx*<sub>2</sub> y un 12% ambos genes de virulencia. Ninguna de las cepas aisladas contenía el gen de la intimina (*eae*), y un 30,95% fue positivo al factor de virulencia *hlyA*. Ninguna de las cepas aisladas pertenece a los serogrupos O157 o grandes seis. **Conclusión:** La carne molida ofrecida en Santiago representa un riesgo al consumidor de contraer infección por STEC. Se requiere de más estudios para determinar el potencial de virulencia que poseen las cepas aisladas.

Proyecto FONDECYT 11150491

**CLP3-14****Análisis fenotípicos de los mutantes Pir de *Saccharomyces cerevisiae* frente agentes perturbadores de la pared celular**

**Gutiérrez O**<sup>2,1</sup>, Roco B<sup>2,1</sup>, Castillo L<sup>2,1</sup>, <sup>1</sup>Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética Universidad de La Serena. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena.

*Saccharomyces cerevisiae* posee una pared celular de carácter complejo que le confiere forma y protección frente al medio. Esta estructura se encuentra constituida principalmente por azúcares tales como  $\beta$ -1,3- y  $\beta$ -1,6-glucano, además de una serie de manoproteínas que se encuentran adheridas de forma covalente a la red de glucanos. Estas manoproteínas juegan un papel importantes en las interacciones entre células, adhesión y en los hongos patógenos contribuyen a su virulencia. Se ha descrito que la familia de las proteínas Pir juegan un rol importante en la conformación y estructura de la pared celular. La familia del gen Pir, codifican una serie de proteínas que comparten un péptido señal de terminal N, un sitio de reconocimiento Kex2p y una o más repeticiones internas. Sin embargo no poseen una secuencia de adición de anclaje GPI C-terminal. Por otro lado se ha demostrado que las proteínas Pir proporcionan resistencia osmótica a *S. cerevisiae*. Con el objetivo de determinar si la ausencia de las proteínas Pir afecta sobre la estructura de la pared celular, se realizaron ensayos de sensibilidad a drogas perpetuadores de la pared celular tales como Calcofluor White (CW) (altera el ensamblaje de las fibra de quitina en la pared celular, Rojo Congo (CR) (altera el ensamblaje de microfibrillas de  $\beta$ 1,3-glucan), SDS (detergente que perturba la integridad de la membrana celular), y Cafeína (afecta la integridad de la pared celular). Por otro lado se realizó un análisis de sensibilidad a zimoliasa (enzima con actividad  $\beta$ -1,3 glucanasa). Los resultados indican que el mutante *Scpir2* $\Delta$  mutante es termosensible pero no incrementa su sensibilidad a la droga Rojo Congo, por otro lado los mutante *Scpir4* $\Delta$  y *Scpir1* $\Delta$  resultaron ser resistentes a RC tanto a 28° C como ha 39°C. Similares resultados fueron encontrados tanto con zimoliasa y Calcofluor White. Estos datos indican claramente que existe un remodelamiento de la pared celular en ausencia de algunas de las proteínas Pir en *S. cerevisiae*. En resumen los resultados demuestran que las proteínas Pir son importantes para la pared celular de *S. cerevisiae*

Núcleo Milenio Biología Fúngica Integrativa y Sintética NC120043

**CLP3-15*****Pneumocystis carinii* induce la hipersecreción de moco en animales inmunocompetentes a través de la activación de la vía STAT6/FoxA2.**

**Rojas D A<sup>1</sup>**, Méndez A<sup>1</sup>, Iturra P<sup>1</sup>, Ponce C<sup>1</sup>, Vargas S<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

*Pneumocystis* es prevalente sobre el 90% de niños de 2-5 meses de vida, coincidiendo con el máximo de casos de muerte súbita y bronquiolitis. Sin embargo, aun no existe una relación causal entre estas patologías y este hongoy tampoco se conoce si posee un rol en enfermedad. En muestras murinas y humanas se ha mostrado que *Pneumocystis* puede activar genes asociados a la hiper-secreción de moco, indicando su posible rol patogénico. Adicionalmente existen evidencias que muestran que la vía STAT6 está siendo activada durante la infección por *Pneumocystis* en animales inmunocompetentes. Para dilucidar cuál es el mecanismo por el cual este hongo induce hipersecreción de moco a través de STAT6, se expusieron ratas a *Pneumocystis* durante su nacimiento, las cuales fueron inyectadas con un inhibidor de la vía STAT6 (Kaempferol) desde el día 55 hasta el día 70 post-infección. La mitad de los animales fueron tratados además con cotrimoxazol para prevenir la infección. Animales infectados y no infectados fueron inyectados solo con suero fisiológico como grupo control. MUC5B se analizó por qRT-PCR, WB e inmunohistoquímica en todos los grupos experimentales. Los niveles de mRNA y proteínas mostraron incrementos en los animales infectados tal como se esperaba, pero en los animales infectados y tratados con Kaempferol, este aumento fue atenuado. Los niveles proteicos del represor transcripcional FoxA2 disminuyeron en animales infectados comparados con no infectados, pero en animales tratados con Kaempferol, esta disminución no fue significativa. Experimentos de inmunoprecipitación de cromatina mostraron que la unión de FoxA2 al promotor de MUC5B disminuyó en animales infectados comparado con no infectados, pero esta efecto no fue observado en animales infectados tratados con Kaempferol. Estos resultados muestran que *Pneumocystis* podría modular la respuesta secretora de las vías aéreas en inmunocompetentes a través de la vía STAT6/FoxA2, siendo un nuevo blanco terapéutico.

FONDECYT 3140391



**CLP3-16****Respuesta de arqueas y bacterias amonio-oxidantes en suelos de cultivo al riego con agua gris y tratada (filtro arena y vermifiltro)**

**Rojas Sanchez M H**<sup>1</sup>, Molina Trincado V A<sup>1</sup>, Aravena Zarate R M<sup>1</sup>, Peña Florin H S D<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha de Ciencias de La Educación. (Sponsored by Veronica Andrea Molina Trincado)

El crecimiento de vegetales depende de la biodisponibilidad de nitrógeno y del microbioma edáfico. En el reciclaje de nitrógeno participan comunidades amonio-oxidantes arqueanas (AOA) y bacterianas (AOB) quienes realizan la primera etapa de la nitrificación y cuya contribución relativa (AOA:AOB) responde a las condiciones fisicoquímicas del suelo. Para el caso del suelo agrícola, estas condiciones están asociadas a la calidad del agua de riego. En este estudio se determinó la razón de AOA:AOB y la estructura comunitaria bacteriana en un suelo húmifero regado durante 7 semanas con: agua gris (AG), agua gris tratada en filtro de arena y vermifiltro (AGA, AGV), y agua potable (AP) como control en comparación con las condiciones iniciales del suelo. Se determinaron parámetros físico químicos asociados a la calidad del agua de riego estándar (n=17) y del suelo (pH, conductividad y materia orgánica total). La abundancia de comunidades AOA y AOB y de bacterias totales se cuantificó mediante qPCR (gen funcional amoA y 16S rRNA, respectivamente). El agua gris filtrada por AGV presentó un menor pH y conductividad, y un mayor contenido de nutrientes en comparación a AG y AGA, coincidiendo con el menor pH y conductividad encontrada para suelos regados con dicha agua que presentó valores similares que tratamientos AP. El riego generó alteraciones en las comunidades del suelo, disminuyendo la contribución de bacterias y comunidades amonio oxidantes en comparación a los valores iniciales. La razón AOA:AOB disminuyó en todos los tratamientos excepto en AGV. Esto se relacionó al aumento de conductividad del suelo sustentado por su significativa correlación negativa con la abundancia de AOA y AOB (Spearman  $r=-0,9$ ,  $p=0.037$ ). En total, los resultados indican que el microbioma edáfico es sensible al tipo de riego, recomendando el uso de filtros AGV en zonas con escasez hídrica rural donde mayormente se reutiliza el agua gris.

FONDECYT N° 1140356.

**CLP3-17****Determinación del papel del uso de codones en la regulación traduccional de genes de respuesta a estrés oxidativo.**

**Rojas J**<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup> Universidad de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Biología Molecular Bacteriana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La regulación de la respuesta a estrés oxidativo en bacterias ha sido descrita principalmente a nivel transcripcional, como es el caso de los regulones *soxRS* y *oxyR* en *Escherichia coli*, que son capaces de responder a estímulos de superóxidos y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> respectivamente. Salvo por el papel de algunos sRNA regulatorios, sólo se ha observado regulación traduccional para estrés oxidativo en organismos eucariontes. A través del análisis del uso de codones en el genoma de *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* LT2 y su posterior correlación con datos publicados de cambios en niveles protéicos frente a un estímulo con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fue posible encontrar patrones de codones que estarían asociados a una mayor concentración de proteínas en algunos genes bajo estrés oxidativo. Fue posible evidenciar que los genes que presentan estos patrones de codones, están enriquecidos en funciones como la síntesis de nucleótidos y metabolismo de aminoácidos. Esto podría indicar un posible mecanismo de adaptación al estrés oxidativo basado en cambios en la eficiencia de traducción de ciertos patrones de codones en *S. Typhimurium*, por lo que se trabaja en validar experimentalmente dichas predicciones.

Financiamiento: CONICYT de Inserción en la Academia 79130044, FONDECYT Iniciación 11140222.

**CLP3-18****Efecto de *Lactobacillus rhamnosus* (GG) sobre la fisiología mitocondrial de ratas expuestas a consumo de alcohol tipo atracón durante la adolescencia**

Salazar C<sup>3</sup>, Lerma-Cabrera J M<sup>1,3</sup>, Carvajal F<sup>3</sup>, Adriasola A<sup>3</sup>, Barreto M<sup>3</sup>, Cañadas F<sup>2</sup>, Cardona D<sup>2</sup>, Armijo R<sup>3</sup>, **Ruiz L<sup>3</sup>**,

<sup>1</sup>Departamento de Psicología, Facultad de Psicología, Universidad de Oviedo. <sup>2</sup>Departamento de Neurociencias y Ciencias de la Salud Universidad de Almería. <sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica Universidad Autónoma de Chile. (Sponsored by FONDECYT 11130192, FONDECYT 11150308, FONDECYT 1140284, Y PIA (ACT 1411).)

Recientemente, varios estudios sugieren un papel importante de la función mitocondrial durante la comunicación cruzada entre la microbiota y la célula hospedera. La calidad y diversidad de la microbiota a su vez podrían modular la función mitocondrial incidiendo en la salud del hospedero. Un importante problema de nuestra sociedad es el consumo de alcohol en la adolescencia, caracterizado por consumo de grandes cantidades de alcohol en poco tiempo. En modelos animales, se ha demostrado que esta exposición al alcohol provoca neuroinflamación, además de generar especies reactivas del oxígeno y disfunción mitocondrial. En el presente estudio evaluamos el efecto del consumo en dieta de *Lactobacillus rhamnosus* sobre la fisiología mitocondrial de ratas pre-expuestas (BEP) y no pre-expuestas (SP) a consumo de alcohol tipo atracón durante la adolescencia. Para escanear la función mitocondrial analizamos mediante qPCR la expresión del gen *higd2a* que codifica para la proteína mitocondrial HIG2A, mediadora del ensamblaje de los respirosomas asociación supramolecular de los complejos respiratorios; I, III y IV. También, se cuantificaron los niveles de ATP y NADH mitocondrial, mediante un ensayo de bioluminiscencia "ADP/ATP Ratio Assay" y análisis de autofluorescencia, respectivamente. La capacidad antioxidante mitocondrial se analizó con el ensayo "Oxiselect Total Antioxidant Capacity". El tratamiento con *L.rhamnosus* disminuyó la expresión del gen *higd2a* en la médula ósea de ratas SP y BEP. Mientras en el hígado *L.rhamnosus* aumentó la expresión del gen *higd2a* en ambos grupos. El NADH mitocondrial es un indicador de la respiración celular, sus niveles fueron levemente aumentados por *L.rhamnosus* en la médula ósea de ratas SP. *L.rhamnosus* aumentó la capacidad antioxidante y los niveles de ATP en la médula ósea de ratas SP y BEP. Aunque se necesitan más estudios al respecto, podemos decir que *L.rhamnosus* modula la fisiología mitocondrial de ratas expuestas a alcohol "tipo atracón" durante la adolescencia.

FONDECYT 11130192, FONDECYT 11150308, FONDECYT 1140284, y PIA (ACT 1411).

**CLP3-19****Estudio de infectividad de aislados chilenos de *Piscirickettsia salmonis* en la línea celular de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) derivado de fluido ovárico (RTOvFI).**

**Ruiz P<sup>1</sup>**, Albornoz R<sup>2</sup>, Cortes M<sup>2</sup>, Oliver C<sup>2</sup>, Yañez A<sup>2</sup>, <sup>1</sup>, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Jaime Figueroa)

La Septicemia Rickettsial del Salmón (SRS) o Piscirickettsiosis en salmónidoses causada por *Piscirickettsia salmonis* una bacteria patógena Gram negativa, intracelular e inmóvil. La capacidad infectiva de esta bacteria ha sido estudiada en células de insecto sf-9 y una serie de líneas celulares de peces: de riñón de salmón del Atlántico (ASK-1), de la cabeza del riñón de salmón del Atlántico (SHK-1), embrionarias de salmón Chinook (CHSE-214), en macrófagos de trucha arcoíris (RTS-11) y en células de gónadas (mezcla de macho y hembra) de trucha arcoíris (RTG-2). Sin embargo, se desconoce el efecto de *P. salmonis* en gónadas de hembra, lo cual podrían ser clave para entender el proceso infectivo de esta bacteria. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la infección por *P. salmonis* en la línea celular de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) derivada de fluido ovárico (RTOvFI). Se realizó la infección con *P. salmonis* en la línea celular y se evaluó a diferentes tiempos post-inoculación (pi): 30 min, 1 h, 3 h, 6 h, 24 h, 48 h, 96 h y 144 h mediante microscopía confocal, microscopía electrónica de transmisión y además se evaluó el efecto citotóxico mediante la medición de LDH, utilizando como control para todos los ensayos las líneas celulares RTS-11 y RTG-2. Se determinó que *P. salmonis* produce efectos citopáticos característicos en RTOvFI, aparición de vacuolas al interior de la célula hasta su desprendimiento, observando la bacteria en algunas vacuolas citoplasmáticas. La medición de LDH en RTOvFI evidencia que *P. salmonis* produce citotoxicidad en este blanco celular. En base a lo anterior, nuestros resultados demuestran que *P. salmonis* puede infectar células ováricas de trucha arcoíris, lo que podría ser fundamental para estudiar la transmisión vertical de esta patología en el hospedador.

FONDAP-INCAR 15110027.

**CLP3-20****Microbiota epibionte de macroalgas marinas del intermareal que controlan el crecimiento de bacterias del biofouling**

**Ruiz-Tagle N<sup>1</sup>**, Aguilar L<sup>1</sup>, Obreque M<sup>1</sup>, Nocker A<sup>2</sup>, Urrutia H<sup>3</sup>, Sossa K<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología Universidad De Concepción. <sup>2</sup>School of Energy, Environment and Agrifood Cranfield University. <sup>3</sup>Microbiología, Ciencias Biológicas, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción. <sup>4</sup>Silvicultura, Ciencias Forestales, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción.

Biofouling son incrustaciones indeseables en superficies inertes inmersas en agua, como superficies de barcos, piscinas, redes acuícolas. Las algas marinas carecen de biofouling, aunque poseen una microbiota fúngica y bacteriana asociada, que poseen cualidades beneficiosas para el hombre como antivirales y antibióticas entre otras. Considerando que estas propiedades pueden ser un referente para la elaboración de biopinturas y/o biocidas aplicados en la industria acuícola o agroalimentaria, es que en este estudio se evaluó la actividad de bacterias epibiontes marinas sobre bacterias del biofouling. Se colectaron las algas *Ulva sp.*, *Pyropia sp.* y *Lessonia sp.* del intermareal rocoso de la Bahía de Concepción, las cuales fueron lavadas con agua de mar artificial (AMa). Desde cada fronda y mediante sacabocados se cortaron discos de 1 cm de diámetro. Los discos fueron agitados suavemente en AMa para remover las bacterias débilmente adheridas y luego sometidas a ultrasonido subletal para remover las bacterias fuertemente adheridas. El inóculo fue usado para aislar bacterias epibiontes con actividad antimicrobiana y los discos fueron esterilizados para la reinoculación de sus bacterias epibiontes y/o bacterias del biofouling. Los ensayos fueron evaluados mediante espectrofotometría, PMA-DGGE y q-PCR. 10 discos se utilizaron para cada ensayo en tres replicas. La esterilización se llevó a cabo usando mix de antibióticos (estreptomina, ampicilina, gentamicina, cicloheximida), biocida e NaClO(10%). No se observó crecimiento microbiano posterior a la esterilización de las algas. Se aisló bacterias epibiontes con actividad antimicrobiana relacionadas a los géneros *Shewanella sp.*, *Psychrobacter sp.*, *Vibrio sp.* las cuales tuvieron efecto significativo en la inhibición y disminución del número de bacterias del biofouling *Pseudoalteromonas sp.* en la superficie de las algas. Mediante este estudio se plantea que algas y sus bacterias actúan de manera conjunta como mecanismo de protección contra el biofouling.

INNOVA CORFO 11IDL2-10665, FIA 0127-2015

**CLP3-21****Participación de la isla de patogenicidad SPI-5 en la internalización y supervivencia intracelular de *Salmonella Typhimurium* en macrófagos murinos RAW264.7**

**Sabag A<sup>1</sup>**, Urrutia Í<sup>2</sup>, Labra B<sup>1</sup>, Valenzuela C<sup>1</sup>, Álvarez S<sup>1</sup>, Santiviago C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La Isla de Patogenicidad 5 de *Salmonella* (SPI-5) está presente en el genoma de distintos serovares de *Salmonella enterica*, incluyendo a *S. Typhimurium*. Esta isla está compuesta por los genes *pipA*, *pipB*, *pipC*, *sopB* y *pipD*, que codifican proteínas efectoras secretadas diferencialmente por los sistemas de secreción tipo III codificados en las islas SPI-1 y SPI-2. Se ha descrito que mutantes de los genes *pipA*, *pipB*, *sopB* y *pipD* de *S. Dublin* presentan defectos en la capacidad de inducir una respuesta inflamatoria y secretora intestinal en modelos de enteritis animal, pero no serían relevantes para la diseminación sistémica en un modelo murino. Un estudio reciente indica que los genes *pipA*, *pipB* y *pipD* se encuentran sobre-expresados en macrófagos murinos luego de 4 horas de infección, aunque se desconoce el rol de los correspondientes efectores en esta etapa del ciclo infeccioso. Por otra parte, sólo los efectores SopB y PipB de *S. Enteritidis* se han asociado con funciones relevantes en la invasión de células epiteliales. El objetivo de este estudio fue determinar el papel que juegan los efectores codificados en la isla SPI-5 en el proceso de internalización y supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en macrófagos murinos. Para ello, construimos cepas mutantes  $\Delta$ SPI-5,  $\Delta$ *pipA*,  $\Delta$ *pipB*,  $\Delta$ *sopB* y  $\Delta$ *pipD* derivadas de *S. Typhimurium* 14028s mediante intercambio alélico. Posteriormente, realizamos ensayos de competencia *in vitro* en macrófagos murinos RAW264.7 usando una multiplicidad de infección de 50 bacterias/célula. Luego de 45 minutos de infección a 37°C, se eliminaron las bacterias extracelulares y se lisaron las células para obtener el recuento de bacterias intracelulares a través de diluciones seriadas y siembra en placas de agar LB. Nuestros resultados mostraron que las cepas mutantes  $\Delta$ SPI-5,  $\Delta$ *pipB* y  $\Delta$ *pipD* de *S. Typhimurium* presentan defectos en la internalización respecto a la cepa silvestre, lo que indica su importancia en el proceso de internalización de *Salmonella* en macrófagos. Actualmente, estamos evaluando el rol de estos efectores en la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en macrófagos murinos RAW264.7.

Proyecto FONDECYT 1140754 y becas CONICYT 22140758, 21150005 y 21140615

**CLP3-22****La infección neuronal con herpes Simplex virus tipo 1 altera la maquinaria Erad**

**Salamin M**<sup>1</sup>, Salazar P<sup>1</sup>, Leyton L<sup>1</sup>, Burgos P<sup>2,3</sup>, Otth C<sup>1,3</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral De Chile.<sup>2</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.<sup>3</sup>Centro Interdisciplinario de Estudios del Sistema Nervioso (CISNe) Universidad Austral de Chile.

Herpes virus simplex tipo 1 (HSV-1) es un agente neurotrópico que causa una variedad de infecciones en los seres humanos. Se ha descrito que durante la infección viral la síntesis de proteínas aumenta en el retículo endoplasmático (RE), gatillando una respuesta de estrés RE por la acumulación de proteínas mal plegadas. Se ha postulado que durante la infección productiva, HSV-1 y sus proteínas reguladoras ICPO (proteína con actividad de ubiquitina ligasa E3) y/o Us3 (proteína quinasa que modifica la maquinaria celular del huésped); podrían afectar negativamente el mecanismo de la degradación de proteínas asociadas al RE (ERAD), a través de la proteína sensora de glicoproteínas mal plegadas, EDEM1; para evitar la degradación de sus proteínas virales y favorecer su infección productiva. La relevancia de este estudio es dilucidar la contribución de la vía ERAD en la infección productiva de HSV-1 y la posible participación de ICPO y/o Us3 en la regulación de esta vía. Mediante cinéticas de infección en células de neuroglioma Humano (H4) que expresan de forma estable un shRNA luciferasa o shRNA EDEM1 fueron infectadas con partículas virales de HSV-1 ya sea de tipo salvaje o con cepas mutantes nulas para ICPO o Us3. Después de la infección celular se analizaron por RT-PCR e inmunoblots la expresión del mRNA y los niveles de la proteína EDEM1, respectivamente. Además se analizó la producción viral por TCID<sub>50</sub>. La infección con HSV-1 disminuye los niveles de la proteína EDEM1, pero sin alterar los niveles del transcrito; en tanto la producción viral de HSV-1 y los niveles de proteínas virales se favorecen en ausencia de proteína EDEM1. Nuestros resultados sugieren que durante la infección viral; HSV-1, modula negativamente la vía ERAD, alterando los niveles de EDEM1 para favorecer el ciclo de replicación viral.

Financiamiento: FONDECYT 1150574 y DID 2015-01.



**CLP3-23****Expresión de PphB en *Salmonella* Typhimurium y su contribución en la supervivencia intracelular en la ameba *Dictyostelium discoideum***

Salas B E<sup>1</sup>, Urrutia Í M<sup>1</sup>, Álvarez S A<sup>1</sup>, Santiviago C A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Recientemente, en nuestro laboratorio demostramos que *Salmonella enterica* serovar Typhimurium puede sobrevivir intracelularmente en la ameba *Dictyostelium discoideum*. Aunque los mecanismos moleculares involucrados en este proceso no han sido caracterizados, se ha reportado que *D. discoideum* utiliza la autofagia como mecanismo de defensa contra patógenos como *Salmonella*. En este trabajo se evaluó la expresión y producción de la proteína PphB, una serina/treonina fosfatasa hipotética de *S. Typhimurium* que podría modular la autofagia en la célula hospedera. Además, se determinó su rol como posible factor de virulencia que contribuye a la supervivencia intracelular del patógeno en la ameba. Para medir la expresión del gen *pphB*, se realizaron ensayos de actividad  $\beta$ -galactosidasa utilizando cultivos de una cepa de *S. Typhimurium* que expresa el promotor de *pphB* fusionado al gen reportero *lacZ*. Por su parte, para evaluar la producción de PphB se construyó una cepa de *S. Typhimurium* que expresa esta proteína fusionada al epítotope 3xFLAG, permitiendo detectarla mediante western blot. Los ensayos de actividad  $\beta$ -galactosidasa mostraron que el promotor de *pphB* se encuentra activo en *S. Typhimurium* al ser cultivada a 37°C en medio rico (caldo LB). Adicionalmente, en esta misma condición de cultivo se inmunodetectó la proteína de fusión PphB-3xFLAG. Posteriormente, se realizaron ensayos de infección para evaluar la supervivencia intracelular de la cepa silvestre de *S. Typhimurium* y de una mutante  $\Delta pphB$  en *D. discoideum* AX4. Los ensayos muestran que la cepa mutante  $\Delta pphB$  presenta una mayor internalización, pero una menor supervivencia intracelular en esta ameba en comparación con la cepa silvestre. En conjunto, nuestros resultados indican que *Salmonella* expresa y produce la proteína PphB y que esta proteína representa un factor de virulencia que contribuye a su supervivencia intracelular dentro de *D. discoideum*. Actualmente, estamos evaluando si PphB interfiere con la autofagia en *D. discoideum* permitiendo que *Salmonella* sobreviva y establezca un nicho replicativo dentro de la ameba. Para ello, se está determinando el flujo autofágico en la ameba sin infectar e infectada con la cepa silvestre de *S. Typhimurium* y la mutante  $\Delta pphB$ .

Este trabajo fue financiado por proyecto FONDECYT 1140754 y las becas CONICYT 22151032 y 21150005

**CLP3-24****La isla de patogenicidad SRL contribuye a la desintoxicación del ácido D-aspártico en *Shigella flexneri* YSH6000**

Henríquez T<sup>1</sup>, Orellana P<sup>2</sup>, Corsini G<sup>2</sup>, Marvasi M<sup>3</sup>, Shah A<sup>3</sup>, Salazar J<sup>4</sup>, **Toro C S<sup>5</sup>**, <sup>1</sup>Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile. <sup>3</sup>School of Science and Technology, London, UK, Middlesex University London. <sup>4</sup>Programa de Microbiología y Micología, Fac de Medicina, Universidad de Chile. <sup>5</sup>Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En los últimos años, el aislamiento de cepas multirresistentes a fármacos (MDR) se asocia a elementos genéticos móviles como islas de patogenicidad. La isla de patogenicidad SRL de *Shigella flexneri* 2a YSH6000 codifica el *locus* SRL, que contribuye al fenotipo MDR en este enteropatógeno. Sin embargo, no existe información de otras funciones asociadas a esta isla. En este estudio se evaluó el papel de la isla SRL en el metabolismo bacteriano. Mediante microarreglos fenotípicos de Biolog se comparó el metabolismo de la cepa silvestre YSH6000 y una mutante por delección espontánea de la isla, denominada *S. flexneri* 1363. La única diferencia observada fue la pérdida de la capacidad de metabolizar el ácido D-aspártico como fuente de carbono en la cepa mutante. El análisis bioinformático de la secuencia de SRL reveló que los genes *orf8-orf9* de esta isla codifican para una aspartato racemasa y un transportador, respectivamente. Al replicar el análisis en el laboratorio creciendo las bacterias en medio mínimo suplementado con ácido D-aspártico se comprobó que la cepa YSH6000 metabolizó el D-aspartato, mientras que la mutante fue incapaz de hacerlo. Cuando se transformó cepas de *S. flexneri* y *S. sonnei* negativas para SRL con los genes *orf8-orf9* en un plásmido, se confirió la capacidad de metabolizar el D-aspártico. Además, se ha descrito que el ácido D-aspártico es tóxico para bacterias que no son capaces de transformarlo en L-aspártico. En este contexto, *S. flexneri* 1363 disminuyó significativamente su metabolismo en presencia de D-aspartato y manosa como fuente de carbono, en tanto que YSH6000 creció mejor en el mismo medio comparado al medio sin D-aspartato, lo que sugiere que la presencia de *orf8-orf9* en la isla SRL no sólo protege a la bacteria contra la toxicidad del ácido D-aspártico, sino que le permite usarlo como fuente de carbono.

FONDECYT 1130394; TH fue financiada por Beca CONICYT Doctorado Nacional 2012

**CLP3-25****Producción de Interleuquina 10 por células T promueven la infección sistémica por *Salmonella* en ratones.**

**Salazar G A**<sup>1,2</sup>, Pardo-Roa C<sup>1,2</sup>, Peñaloza H F<sup>1,2</sup>, Muñoz-Durango N<sup>1,2</sup>, Schultz B M<sup>1,2</sup>, Gómez R S<sup>1,2</sup>, Salazar F J<sup>1,2</sup>, Pizarro D P<sup>1,2</sup>, Riedel C A<sup>3,2</sup>, González P A<sup>1,2</sup>, Kalergis A M<sup>1,2</sup>, Alvarez-Lobos M<sup>4</sup>, Bueno S M<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia. <sup>3</sup>Ciencias Biológicas, Ciencias Biológicas y Medicina, Universidad Andrés Bello. <sup>4</sup>Gastroenterología, Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

**Introduction:** *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) is a Gram-negative bacterium that produces systemic disease in numerous hosts. In mice, oral inoculation is followed by intestinal colonization and subsequent dissemination into deeper tissues, which leads to severe pathogenesis without the activation of an efficient anti-*Salmonella* immune response. This feature suggests that the infection caused by *S. Typhimurium* may promote the production of anti-inflammatory molecules by the host to prevent efficient T cell activation and bacterial clearance. **Methodology:** We assessed the role of IL-10 in *S. Typhimurium* infection *in vivo* using IL-10 knockout mice (IL-10<sup>-/-</sup>). IL-10 production was determined in both GFP (IL-10-GFP) and wild type (WT) C57BL/6 mice by RT-qPCR and flow cytometry, at 5 days post-infection. **Results:** After oral infection, *Il-10* mRNA was detected throughout the time in several tissues, showing an increased overexpression in spleen and liver at 5 days post-infection, where both B and T cells were identified as the main producers of this cytokine. Importantly, we observed that IL-10<sup>-/-</sup> mice displayed a notorious resistance to systemic disease caused by *S. Typhimurium*, with significantly reduced bacterial loads in both, the spleen and liver, as compared to wild-type mice. In agreement with these observations, transfer of IL-10 producing T cells fully restored the susceptibility of IL-10<sup>-/-</sup> mice to systemic *S. Typhimurium* infection. **Conclusion:** Our results suggest that IL-10 production by T cells is a key process in the infective cycle of *S. Typhimurium* in mice, due to generation of a tolerogenic immune response that favor bacterial dissemination.

This study was supported by grants Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología de Chile (FONDECYT) # 1100971, 1110604, 1140010, 1110397, 1030996, 1131012, Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy P09/016-F.

**CLP3-26****Identificación y caracterización molecular sistema de quorum sensing y el rol que cumple en la formación de biofilm en *Xanthomonas arboricola* pv. *Juglandis*, agente etiológico de la peste negra del nogal**

**Saldías J**<sup>1</sup>, Alvarado R<sup>2</sup>, Nuñez P<sup>2</sup>, Retamales J<sup>2</sup>, Marshall S<sup>1</sup>, Gómez F A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Biología, Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <sup>2</sup>Laboratorio I+D Agroadvance Ltda. .

La bacteria *Xanthomonas arboricola* pv. *Juglandis* (*Xaj*), agente causal de la la peste negra del nogal, que impacta los cultivos de nueces en Chile y el mundo, con pérdidas de entre 60%-80%. El control de la enfermedad se realiza con compuestos cúpricos, lo que ha generado cepas resistentes al cobre, siendo urgente una nueva alternativa de control de la enfermedad. Una nueva alternativa es afectar al mecanismo de "quorum sensing" (QS), ya que estos sistema regula la expresión de estrategias de sobrevivencia, como la formación de biofilm y genes de virulencia. Debido a que el sistema QS de *Xaj* aun no ha sido descrito, el objetivo de este estudio realizar una caracterización molecular del sistema de QS de *Xaj*, para posteriormente determinar su posible rol en la formación de biofilm. Se realizó un análisis bioinformático para identificar los genes responsables del QS en *Xaj*, utilizando como modelo el sistema descrito para *Xanthomonas campestris*. Adicionalmente, se evaluó la formación de biofilm en diferentes medios de cultivo y temperaturas. Finalmente, se determinó la expresión de los genes identificados por qPCR en condiciones de formación de biofilm. Los análisis del genoma de *Xaj* permitieron identificar a los genes: *rpfC-rpfG* (histidin quinasa), *Clp* (factor transcripcional) y *rPff* (síntesis de DSF- Factor Difusible Señal-), las que son responsables del QS en el género *Xanthomonas*. Se determinó que mayor formación de biofilm entre 25°C y 30°C en un medio cultivo mínimo (YMM). Finalmente, la mayor expresión de los genes identificados fue en las condiciones de formación de biofilm, lo que podría indicar que están involucrados en este proceso. En conclusión, se identificaron los genes principales responsables de QS, incluyendo al responsable de la síntesis del autoinductor DSF (Factor Difusible Señal) se convierten en posibles blancos para buscar mecanismos de interferencia vía "Quorum Quenching". Trabajo financiado por Dirección de Innovación y Emprendimiento (DIE) de la PUCV y por Laboratorios Agroadvance Ltda.

**CLP3-27****El análisis del pangenoma de *Piscirickettsia salmonis* revela un genoma abierto con importantes variaciones entre cepas**

**Sánchez P**<sup>1,2</sup>, Haro R<sup>3</sup>, Arriagada V<sup>1</sup>, Oliver C<sup>4,2,1</sup>, Yáñez A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral De Chile. <sup>2</sup>INCAR Interdisciplinary Center for Aquaculture Research. <sup>3</sup>Austral-OMICS, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. <sup>4</sup>Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuicola, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

El pangenoma se define como el conjunto completo de genes de todas las cepas de una especie bacteriana. Generalmente se subdivide en el genoma 'core' que contiene los genes comunes a todas las cepas y el genoma accesorio o " prescindible", en cual se cuentan los genes presentes en dos o más cepas y en un tercer grupo se agrupan los genes únicos para una cepa particular. En este trabajo se realizó un análisis del pangenoma de *Piscirickettsia salmonis*, una gamma proteobacteria gram-negativa, fastidiosa y el agente etiológico de la Septicemia Rickettsial del Salmón (SRS), patología que causa una alta mortalidad en salmónidos cultivados en Chile. Para el análisis se emplearon 8 cepas cuyos genomas se encuentran disponibles en bases de datos públicas. A partir de una clusterización al 85% de identidad de todas las secuencias codificantes de las cepas analizadas, y un posterior refinamiento de esta clusterización a fin de eliminar el sesgo generado por la inclusión de genomas no cerrados, el análisis reveló que el pangenoma está formado por un total de 3473 clusters de genes, categorizados en genoma core (1598 clusters, 46,01%), accesorio (1577, 45,41%) y genes únicos (298, 8,59%). Cada cepa aporta con un número variable de genes nuevos (entre 5 y 133). Mediante métodos basados en la ley de Heaps se estimó la disminución del genoma 'core' y el aumento del pangenoma al añadir cepas al análisis, lo cual revela que el pangenoma de *Piscirickettsia salmonis* se encuentra en expansión. Se analizaron los conjuntos de genes de cada categoría, mediante enriquecimiento funcional (COGs) y estudios de sintenia. Los resultados muestran marcadas variaciones en las principales categorías funcionales en cada conjunto. También se identificaron regiones únicas flanqueadas por elementos móviles exclusivos de algunas cepas y mediante comparación con bases de datos se identificaron diferencias en clusters de genes puntuales relacionados con procesos relevantes (virulencia, mecanismos de resistencia y sistemas de secreción). Los resultados muestran que el genoma de *P. salmonis* es de carácter abierto y resaltan la importancia del aislamiento de cepas ambientales a fin de lograr una mejor comprensión global de este patógeno.

FONDAP-INCAR 15110027

**CLP3-28****Diversidad bacteriana de la filósfera en el ecosistema Mediterráneo Chileno: vegetación esclerófila, viñedos y manejo agrícola**

**Sánchez R<sup>1</sup>**, Miura T<sup>1</sup>, Barbosa O<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La agricultura es uno de los principales precursores de disminución de la biodiversidad a diferentes escalas y niveles de organización, sin embargo sus efectos sobre la diversidad microbiana de la filósfera han sido escasamente estudiados. Uno de los biomas más afectados por la expansión de cultivos agrícolas es el Ecosistema Mediterráneo chileno (EMC), el que también es definido como uno de los 35 *hotspot* mundial de biodiversidad y un área prioritaria para conservación. En el EMC la industria vitivinícola ha sido un agente importante en la conversión de vegetación esclerófila nativa en cultivos agrícolas, lo cual ha impactado negativamente sobre la biodiversidad y servicios ecosistémicos. Una alternativa para disminuir estos efectos negativos es optar por manejos agrícolas que disminuyen la degradación del agroecosistema (ej. manejo orgánico). Por otro lado algunos grupos específicos de bacterias cumplen importantes funciones para la producción vitivinícola, sobre todo en la fase de fermentación maloláctica. Considerando este contexto en este trabajo describimos y comparamos la diversidad bacteriana que habita sobre la uva y hojas en viñedos y sobre hojas en la vegetación esclerófila, y analizamos si viñedos con manejo orgánico presentan una diversidad bacteriana aérea diferente de viñedos con manejo convencional. La metodología contempla el análisis de la variación espacial de la diversidad bacteriana en la vegetación esclerófila y viñedos ubicados en el valle de Colchagua utilizando la secuenciación de la región ribosomal 16s. Los resultados muestran que vegetación esclerófila, viñedos con manejo orgánico y viñedos con manejo convencional comparten una alta proporción de taxa, dentro de los cuales se identifican varios importantes para vinificación (*Lactobacillus*, *Oenococcus*). Considerando características de los dos hábitats vegetales, los resultados sugieren que la vegetación esclerófila nativa puede representar un reservorio de diversidad microbiana y un importante componente para acercarse a una agricultura resiliente en el EMC.



**CLP3-29****Estudio metagenómico de la microbiota bacteriana en infección endodóntica persistente usando NGS**

**Sánchez-Sanhueza G<sup>1</sup>**, Bello-Toledo H<sup>2</sup>, González-Rocha G<sup>2</sup>, Gallardo-Escárate C<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Microbiología, Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos LIAA, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Microbiología, Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos LIAA, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. <sup>3</sup>Laboratorio de Biotecnología y Genómica Acuática Universidad de Concepción. (Sponsored by Gerardo González Rocha)

A nivel mundial se describe una alta prevalencia de periodontitis apical crónica persistente (PACP), asociada a la presencia de bacterias. Éstas se establecen en biopelículas intraconducto en los túbulos dentinarios, consideración clave al evaluar los resultados terapéuticos, de ahí que conocer la composición de la microbiota en este nicho ecológico, es un eslabón importante para comprender la patogénesis de esta enfermedad. El objetivo de este estudio fue determinar la microbiota bacteriana asociada a conducto radicular con diagnóstico de PACP en una población chilena. Se tomó muestra desde conducto radicular a 24 pacientes, y se extrajo el ADN para amplificar las regiones variables V3 y V4 del ARNr 16S bacteriano. El producto de amplificación fue secuenciado mediante la técnica metagenómica *Illumina MiSeq System* para establecer la abundancia de las distintas especies y un análisis de la composición y diversidad de las comunidades microbianas en el conducto radicular de los pacientes con PACP. Existe una gran diversidad de bacteriana en las muestras, destacando una alta prevalencia de *Pseudomonas* y *Atopobium*, géneros bacterianos escasamente pesquisados en patologías orales de causa microbiana; sin embargo, han sido descritos en otros hallazgos que han usado NGS, y que asocian su presencia a contaminación por filtración desde la saliva al conducto radicular. No obstante, nuestro estudio incluyó casos sin filtración coronaria. Se encontró una correlación significativa entre la presencia de síntomas y la composición de la comunidad bacteriana. Se concluye que el uso de NGS, mejora nuestro conocimiento de la microbiota asociada a PACP y nos permite evaluar las interacciones entre el hospedero y los microorganismos en la patogénesis que afecta a los tejidos pulpares y periradiculares.

“Proyecto de Iniciación” VRID N°214.102.016-1 OIN y Beca CONICYT-PCHA / Doctorado Nacional / 2013 folio 21130022.



**CLP3-30****Utilización de *Lactococcus lactis* recombinante como probiótico para potenciar la respuesta inmune del salmón**

**Santibañez A**<sup>1</sup>, Paine D.<sup>2</sup>, Muñoz C<sup>2</sup>, Tello M<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología Acuicola, Química y Biología, Universidad de Santiago. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología Acuicola, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>3</sup>Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La industria salmonera chilena se ve constantemente amenazada por patógenos virales y bacterianos, lo que ha llevado a incorporar métodos preventivos como la vacunación, sin embargo la protección que generan no ha logrado mermar la elevada tasa de mortalidad ocasionada por virus y bacterias. Por otro lado, la enorme cantidad de antibióticos vertidos en los cultivos para combatir bacterias patógenas han demostrado afectar la microbiota natural del pez, suprimiendo su respuesta natural frente a la enfermedad. Nuestro laboratorio ha apostado por la utilización de probióticos como sistema de liberación de citoquinas recombinantes para activar un estado inmune a través de la alimentación. *Lactococcus lactis*, una de las principales bacterias que habita el tracto gastrointestinal del salmón fue generado y utilizado para liberar citoquinas de salmón a través de un vector de expresión *food grade*. La bacteria recombinante es capaz de generar citoquinas citosólicas desde la primera hora y secretarlo al medio extracelular desde las 6 horas. El contenido soluble es incubado en células de salmón SHK-1 y posteriormente se cuantifica mediante qPCR: STAT1, IFN $\gamma$ , TGF- $\beta$ , IL-6, IL-10 e IL-1 $\beta$ . Posteriormente, para evaluar la respuesta *in vivo*, se administró la bacteria recombinante a ejemplares de trucha arcoíris a través de la alimentación y se cuantificó STAT1, IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ , IL-6 e IL-12 durante la alimentación y post alimentación. Los resultados muestran que en cultivo celular existe una respuesta proinflamatoria mediada por IL-6 e IL-1 $\beta$  y un aumento en los transcritos de STAT1, marcadores de una respuesta inmune activada. *In vivo* se observa una tendencia similar hacia un estado proinflamatorio, con aumento de los niveles de lisozima en suero, y de transcritos asociados a una respuesta inflamatoria, sugiriendo que el pez estaría respondiendo a la presencia de la citoquina generada por el probiótico y que este no sería nocivo para el pez, sin embargo, es necesario evaluar el efecto del probiótico en ejemplares desafiados para determinar la real protección en el salmón.

Proyecto CORFO 13CTI-21527

**CLP3-31****Epidemiología del casete SCCmec; herramienta *in-silico* para la determinación de nuevas variantes y re-anotación.**

**Sepúlveda F<sup>1,2</sup>**, Ugalde J A<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad Del Desarrollo. <sup>2</sup>Programa de Genómica Microbiana, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad Del Desarrollo.

*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA, del inglés, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) es uno de los principales organismos causantes de infección en humanos. Su principal característica es la resistencia a meticilina, determinada por la presencia de un casete de resistencia específico al género *Staphylococcus* denominado SCCmec (Staphylococcal Cassette Chromosome mec). Este casete genómico contiene el gen *mecA*, el cual codifica para la proteína PBP2a, una transpeptidasa que participa en la formación de la pared celular y que posee baja afinidad con antibióticos de la familia de los betalactámicos. SCCmec se ha utilizado como marcador de cepas MRSA y para estudios epidemiológicos, en donde se han descrito 12 tipos de SCCmec, y en algunos casos con más de 6 subvariantes en cada tipo. Su presencia se determina utilizando la técnica de PCR, con partidores específicos para diferentes regiones dentro de este casete, y de acuerdo a la amplificación obtenida, se asigna un tipo de SCCmec. Este procedimiento tiene algunas limitaciones en estudios epidemiológicos debido a posibles sesgos de los partidores utilizados para clasificar, la aparición de nuevas variantes y variaciones entre diferentes conjuntos de partidores y centros de estudio. Esta variación en la clasificación del SCCmec puede influir en la tipificación de la cepa, así como también en los resultados en estudios de brotes infecciosos. Como una alternativa, utilizando datos de secuenciación masiva obtenida de bases de datos como NCBI, Ensembl y ENA (European Nucleotide Archive), hemos desarrollado un método *in-silico* para la determinación del tipo de SCCmec basado en la secuencia nucleotídica completa de estos casetes. Esta metodología se basa en la clusterización por distancia de las secuencias SCCmec y su posterior visualización en una red, en donde las conexiones de los nodos permiten generar clúster formados por secuencias de casetes del mismo tipo. Esta herramienta permitiría re-anotar SCCmec actuales, así como clasificar nuevas cepas.

Proyecto financiado por Fondecyt N° 11140666

**CLP3-32****Efecto de la mutación de genes reguladores en la producción de metabolitos secundarios de *X. dendrorhous***

**Sepulveda D<sup>1</sup>**, Cordova P<sup>2</sup>, Alcaíno J<sup>2</sup>, Baeza M<sup>2</sup>, Cifuentes V<sup>2,1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología, Ciencias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Ciencias Ecológicas, Ciencias, Universidad de Chile. (Sponsored by Jennifer Alcaíno G)

*Xanthophyllomyces dendrorhous* es una levadura basidiomicete carotenogénica de interés biotecnológico por producir como principal pigmento Astaxantina, y otros metabolitos secundarios como micosporinas. Estudios previos han reportado que el regulador Mig1 reconoce secuencias en regiones promotoras de algunos genes carotenogénicos, y que en presencia de glucosa los reprimiría. Además, se conoce que Mig1 requiere de un complejo co-represor Cyc8-Tup1 para reprimir los genes blanco. Como Mig1, además se han reportado otros genes reguladores cuyos productos génicos interactúan con el complejo Cyc8-Tup1, tales como Rox1 que regula genes inducidos por hipoxia, Skn7 que regula genes de respuesta a estrés osmótico-oxidativo y Opi1 que reprime genes estructurales de la síntesis de fosfolípidos.

Como una forma de estudiar este sistema de regulación de la expresión génica, se construyeron mutantes de delección de los genes *ROX1*, *SKN7* y *OPI1*, reemplazando sus marcos de lectura abiertos por un módulo de resistencia a higromicina B y/o a Zeocina, dejando secuencias externas al gen, de alrededor de 600 nucleótidos, para la integración por recombinación de cada módulo en el genoma.

Se transformó la cepa de *X. dendrorhous* UCD 67-385, con cada módulo respectivamente. Como resultado se obtuvo transformantes resistentes, los cuales fueron crecidos en medio YM glucosa al 1%, y luego se analizó la producción de carotenoides y micosporinas, metabolito del cual, no existen reportes respecto a una regulación por glucosa. Los resultados muestran que los pigmentos totales obtenidos aumentan en los mutantes respecto a la cepa silvestre parental, siendo este más significativo en la mutación del gen regulador *CYC8*. Respecto a la producción de micosporinas, éstas muestran una disminución respecto al parental siendo más evidente en los mutantes de los genes, *TUP1* y *SKN7*. Los resultados sugieren que dichos reguladores afectarían tanto la producción de pigmentos como de micosporinas, desconociéndose el mecanismo de regulación para estos últimos.

Fondecyt 1140504

## CLP3-33

**EVALUACIÓN DE LA SOBREVIVENCIA A LA MICROENCAPSULACIÓN POR SPRY DRY DEL *Lactobacillus delbrueckii sub bulgaricus*, *Bacillus megaterium* y *Bacillus polymyxa***

**Gutiérrez R<sup>1</sup>L.A.**, de Araujo<sup>2</sup>, N., Cardona<sup>3</sup> B.L. PhD, Docente Corporación Universitaria Lasallista, Zootecnia- Grupo de investigación y transformación agropecuaria. Caldas Antioquia-Colombia.

<sup>2</sup>Microbióloga cMSc Biotecnología Universidad Nacional

<sup>3</sup>MSc Docente Corporación Universitaria Lasallista. Ingeniería de Alimentos. MSc Caldas Antioquia-Colombia.

Correspondencia: [lugutierrez@lasallistadoctentes.edu.co](mailto:lugutierrez@lasallistadoctentes.edu.co)

Los probióticos proporcionan beneficios a la salud al consumidor hombre o animal. Estos microorganismos pueden hacer parte de formulaciones, en las cuales es importante su viabilidad, lo cual implica usar estrategias que garanticen condiciones de sobrevivencia en la matriz a la que se incorporan. El **objetivo** de este proyecto fue evaluar la viabilidad de tres aislados probióticos, *Lactobacillus delbrueckii sub bulgaricus*, *Bacillus megaterium* y *Bacillus polymyxa* a la microencapsulación por Spry Dry. Los **métodos** Se encapsularon por spry dry *L.delbrueckii*, *B.megaterium* y *B.polymyxa* utilizando como material encapsulante maltodextrina einulina, se realizaron 17 ensayos sometidos a diferentes temperaturas y concentraciones de maltodextrina, de acuerdo al diseño central compuesto establecido para la experimentación, la variable respuesta fue UFC. Las capsulas se sometieron al efecto de sales biliares 0,3%p/v, pH 3, NaCl 2% p/v durante 4 horas y a 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente 23°C. Los **resultados** evidenciaron que la temperatura fue el factor determinante de sobrevivencia. Temperaturas de 90°C-110°C con concentraciones de maltodextrina de 23%p/v-35% p/v mostraron los mejores resultados en la viabilidad de los probióticos; igualmente se preservaron a condiciones ambientales y mantuvieron los microorganismos viables durante 30 días. **Conclusiones:** la microencapsulación por Spray Dry es un buen método para mantener la viabilidad de los microorganismos estudiados por 30 días

**PALABRAS CLAVES:** probióticos, microencapsulación, spry dry

**CLP3-34****Evaluación de la actividad antimicrobiana e inocuidad de extractos de macroalgas marinas del intermareal**

**Sossa K**<sup>1</sup>, Obreque O<sup>1</sup>, Sauer A<sup>1</sup>, Ruiz-Tagle N<sup>2</sup>, Sanfuentes E<sup>1</sup>, Urrutia H<sup>3</sup>, Perez C<sup>4</sup>, Becerra J<sup>4</sup>, Astuya A<sup>5</sup>, <sup>1</sup>Silvicultura, Ciencias Forestales, Universidad De Concepción.<sup>2</sup>Centro de Biotecnología, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción.<sup>3</sup>Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.<sup>4</sup>Botánica, Ciencias Naturales y oceanográficas, Universidad de Concepción.<sup>5</sup>Oceanografía, Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

La exportación agropecuaria es el segundo ingreso con mayor importancia en Chile destacándose las frutas frescas, siendo importantes en la VIII la producción de arándano y cerezas, las cuales pueden ser afectadas por diversos patógenos, generando importantes pérdidas económicas. Uno de los principales patógenos es *Botrytis cinerea* entre los hongos y *Pseudomonas syringae* entre las bacterias.

Para el control de dichas enfermedades se dispone en Chile de diversos fungicidas químicos los que pueden ser tóxicos, corrosivos, cancerígenos o problemáticos para el medio ambiente, además se ha corroborado que seleccionan resistencia y poseen una imagen negativa, por lo que los consumidores se prefieren "productos naturales". Se conocen importantes beneficios de las macroalgas marinas en la industria cosmética, alimentaria y antibiótica, por ello, el objetivo de este estudio fue seleccionar macroalgas con actividad antimicrobiana e inocua.

14 extractos totales de macroalgas colectadas en el intermareal de la VIII región se utilizaron para realizar ensayos de inhibición de crecimiento de *Pseudomonas syringae* (halo de inhibición), además para ensayos de inhibición del crecimiento micelial (ICM) y germinación de conidias (IGC), del fitopatógeno *Botrytis cinerea* aislado de arándanos y cerezas enfermos, determinándose los parámetros EC50 y EC90.

Tres extractos inhibieron la germinación de conidias en *B. cinerea*, MRQ-16 (EC50=2.59 mg/ml); MRQ-17 (EC50=4,19 mg/ml); MRQ-23 (EC50=1,9 mg/ml), dos extractos inhibieron el crecimiento micelial: MRQ-16 (EC50=7,06 mg/ml); MRQ-23 (EC50=5,74 mg/ml), uno inhibió a *Ps. syringae* (MRQ-17=16mm). Ensayos de citotoxicidad sobre Neuro-2a presentaron IC50% > 360 mg/L.

Se demuestra que es posible el uso de macroalgas en el control patógenos agrícolas, como *B. cinerea* y *Ps. syringae*, con el potencial generar antifúngicos y antibacterianos para la agricultura que sean naturales e inocuos.

Financiado por FIA PYT-2015-0127

**CLP3-35****Microencapsulación de bacteriófagos líticos en matrices de alginato como método de protección para la industria acuícola y avícola.**

**Soto M J**<sup>1</sup>, Bastías R<sup>1</sup>, Palza H<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <sup>2</sup>Ciencia de los Materiales, Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile. (Sponsored by Dra. Carolina Yáñez Prieto )

El uso de bacteriófagos se ha propuesto como una alternativa atractiva para el control de bacterias patógenas resistentes a antibióticos. Sin embargo, factores como la vulnerabilidad de los fagos frente a condiciones ambientales adversas ha restringido su uso y escalamiento a nivel comercial. Una potencial solución para este problema es el uso de matrices de polímeros que aumenten la viabilidad de los fagos en el ambiente. Este trabajo evalúa el uso de matrices de alginato-Ca como mecanismo de protección para los fagos CHOED y f3 $\alpha$ ES, los cuales han sido utilizados exitosamente para prevenir las infecciones producidas por *Vibrio anguillarum* y *Salmonella* Enteritidis, respectivamente. Ambos bacteriófagos fueron encapsulados en matrices de alginato-Ca para evaluar el efecto protector de estas frente a distintas condiciones de T°, pH, UV, en comparación a fagos no encapsulados sometidos a las mismas condiciones. Los resultados muestran que a pH 3 existe un aumento significativo en la viabilidad del fago f3 $\alpha$ ES, alcanzándose un efecto protector del 81% con respecto al 1% de los fagos no encapsulados, lo que sugiere la protección de la matriz de alginato-Ca para este caso. No se observó efecto protector bajo otras condiciones de pH o para el fago CHOED. Al exponer ambos fagos encapsulados a 40 °C, 50 °C y 60 °C no se observa un efecto protector con respecto a los fagos no encapsulados, así como tampoco, cuando los fagos fueron expuestos a luz UV. Las diferencias observadas en los resultados obtenidos con el fago CHOED y el fago f3 $\alpha$ ES, junto a resultados reportados previamente, sugieren fuertemente que el potencial efecto protector de matrices de alginato no es universal para todo tipo de fagos y probablemente depende de características particulares de cada fago. Nuestro estudio demostró que la matriz de alginato-Ca si otorga protección al fago f3 $\alpha$ ES en condiciones de pH3.

Proyecto Fondecyt 11140412

**CLP3-36****Genotipificación de Virus de la Necrosis Pancreática Chilenos y posible relación hospedador-específica**

Torres P<sup>1</sup>, Eissler Y<sup>1</sup>, **Tapia D**<sup>1,2</sup>, Juan Carlos E<sup>1</sup>, Juan K<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Investigación y Gestión de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. <sup>2</sup>Doctorado en Acuicultura Universidad de Chile, Universidad Católica del Norte, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. (Sponsored by Yoanna Eissler Parada)

Se analizaron muestras de órganos de las principales especies de salmónidos cultivados en Chile a través de la reacción en cadena de la polimerasa anidada (PCR anidado) para detectar la presencia del virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV). La técnica resultó ser eficiente y sensible, permitiendo amplificar material genético del virus para su secuenciación directamente desde los tejidos, incluso desde muestras que no pudieron ser aisladas en cultivo celular. A través del análisis filogenético se detectaron los dos genogrupos descritos previamente en el país: europeo (Genogrupo 5) y americano (Genogrupo 1), siendo cuantitativamente predominantes los IPNV del Genogrupo 5 (78,8%). Dentro del Genogrupo 1 se observó claramente la formación de un sub-grupo de virus chilenos separados de las cepas de referencia (e.g. WB, VR-299), por lo que se propone su denominación como genotipo chileno. Adicionalmente, se observó una relación hospedador-específica entre los genogrupos identificados; los virus del Genogrupo 5 provienen de la especie *Salmo salar* mientras que los del Genogrupo 1 provienen de *Oncorhynchus mykiss* y *O. Kisutch*. La confirmación de esta relación hospedador-específica mediante desafíos experimentales puede proveer información importante para el manejo y control del IPNV en Chile.

Proyecto Sernapesca R.E.N°1090; Proyecto DIUV-CID N°01/03; Proyecto Subpesca R.EX N°1548, código 2013-32-17; y Proyecto FIP N° 2014-60.



**CLP3-37****Actividad antitumoral de pigmentos aislados desde bacterias Antárticas y Patagónicas**

**Tapia C<sup>1</sup>**, López B<sup>3</sup>, Cajas D<sup>2</sup>, Astuya A<sup>3</sup>, Becerra J<sup>2</sup>, Martínez M<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepcion.<sup>2</sup>Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.<sup>3</sup>Unidad de Biotecnología Marina, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. (Sponsored by Miguel Antonio Martínez Poblete)

Las bacterias y sus metabolitos como policétidos, exopolisacáridos y pigmentos son una diversa fuente de compuestos con actividad biológica incluida la antitumoral. En los ambientes extremos se han aislado bacterias que presentan diversos tipos de pigmentos relacionados con mecanismos de respuesta a estrés. El objetivo de este estudio fue extraer, caracterizar y evaluar la actividad antitumoral de pigmentos sintetizados por bacterias aisladas desde ambientes antárticos y Patagónicos. Para esto, se seleccionaron cepas bacterianas pigmentadas, 3 aisladas desde la Patagonia y 3 desde la Antártica. Las bacterias se cultivaron en 3L de caldo R2A durante 48h con agitación constante (120rpm). Luego fueron centrifugadas durante 10 min 4 °C a 9000g. Los pigmentos fueron extraídos a partir del pellet celular usando una mezcla de acetona:metanol (7:2) o metanol puro y concentrados bajo presión reducida. Los extractos fueron solubilizados en acetona y analizados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Finalmente se determinó la actividad antitumoral de los extractos sobre la línea de Neuroblastoma N2a mediante ensayos de citotoxicidad usando 3-(4,5-dimetiltiazol-2-YI)-2,5-difenil-tetrazolio bromuro (MTT) como indicador de viabilidad celular. De acuerdo con el análisis por HPLC, los tiempos de retención y espectrogramas de las principales señales detectadas, los pigmentos sintetizados por estas bacterias corresponden principalmente al tipo de los carotenoides, también se detectaron pigmentos del tipo violaceina sintetizado por *Iodobacter* sp. UDEC-P20, este último presentó actividad antitumoral sobre la línea celular N2a. Se concluye que pigmentos sintetizados por bacterias de ambientes extremos fríos pueden ser una opción para la búsqueda de nuevas moléculas potencialmente utilizables para el tratamiento del cáncer.

Proyecto Fondecyt N°:1151028

Proyecto Asociativo VRID 214083030-1.0

**CLP3-38*****Piscirickettsia salmonis* modula la respuesta inmune de macrófagos de salmón del Atlántico**

**Tapia S<sup>1</sup>**, Soto-Herrera V<sup>2</sup>, Morales-Reyes J<sup>3</sup>, Barrientos C<sup>3</sup>, Perez-Stuardo D<sup>1</sup>, Sandino A M<sup>3</sup>, Reyes-Cerpa S<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genómica y Bionformática, Ciencias, Universidad Mayor.<sup>2</sup>Centro de Biotecnología Acuicola, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>3</sup>Laboratorio de Virología Ictio Biotechnologies. (Sponsored by Ana Maria Sandino)

*Piscirickettsia salmonis* es un patógeno intracelular de salmonidos que infecta macrófagos, lo que sugiere que evade la respuesta inmune residiendo en endosomas y evitando su degradación lisosomal, sin embargo, los mecanismos inmunoregulatorios que permiten la residencia intracelular en el macrófago son pobremente conocidos. Por esta razón, como objetivo nos hemos propuesto determinar los niveles de expresión de transcritos de citoquinas pro-inflamatorias, anti-inflamatorias y marcadores de presentación de antígenos y estudiar su relación con la localización y replicación intracelular de *P. salmonis*. Se realizaron cultivos primarios de macrófagos de salmón del Atlántico y luego se infectaron con *P. salmonis* en una cinética de 6h para determinar los niveles de transcritos de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-12, IL-10, TGF- $\beta$ , MHC-I y MHC-II mediante qPCR. Como control de activación se utilizó *P. salmonis* inactivada y LPS. La localización intracelular de la bacteria fue determinada mediante microscopía confocal utilizando cell-tracker red y anti-LAMP2. La supervivencia y replicación intracelular fue determinada mediante un ensayo de protección de gentamicina-saponina y la carga bacteriana intracelular fue determinada durante 7 días mediante qPCR. Como resultado observamos un leve aumento en la expresión de transcritos de citoquinas pro-inflamatorias, los que se expresan en mayor magnitud frente al tratamiento de macrófagos con *P. salmonis* inactivada y LPS. Además, alrededor de un 70% de *P. salmonis* alcanza el lisosoma de macrófagos infectados siendo detectada por al menos 6h post-infección, sin embargo, el número de bacterias dentro del macrófago alcanza un máximo a las 72h post-infección, sugiriendo que no es degradada. En resumen, si bien *P. salmonis* parece alcanzar el lisosoma de los macrófagos que infecta, la baja respuesta inflamatoria montada frente a la infección sugiere que la bacteria modula la respuesta inmune para replicar dentro de las células infectadas.

FONDECYT INICIACION 11150807 - CONSORCIO CORFO 13CTI21527

**CLP3-39****Estructura modular de los sRNA que reconocen múltiples mRNA en *Escherichia coli***

Avalos F<sup>2</sup>, Maldonado J P<sup>1</sup>, **Tello M**<sup>2</sup>, Orellana O<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular Bacteriana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Los sRNA son un tipo de RNA no codificante que participa en la regulación de la traducción en bacterias. El mecanismo por el cual regulan la traducción involucra la interacción mediante complementariedad de bases con los mRNA blanco, generalmente bloqueando o facilitando la unión del ribosoma a la región de inicio de traducción. En *Escherichia coli* existen 108 sRNAs, de los cuales 16 (OmrA, Spot42, RyhB, OmrB, GcvB, OxyS, MicA, RybB, FnrS, DsrA, SgrS, MicC, MicF, RprA, CyaR, RygD) interactúan con un número de mRNAs que varía entre 4 y 50. Actualmente se desconocen las bases moleculares de la interacción de un sRNA con múltiples mRNAs. Se propone que estos sRNAs presentan una estructura modular que les permite interactuar con regiones pequeñas conservadas en los mRNA. En este trabajo se identificaron mediante estrategias bioinformáticas las regiones de interacción sRNA-mRNA. Los módulos se definieron como zonas del sRNA con alta densidad de interacción sRNA-mRNA. La especificidad de cada módulo se visualizó mediante el programa Cytoscape a través de la construcción de un mapa de redes de interacción de cada módulo con sus blancos. Mediante estos estudios se determinó que los sRNA que interactúan con múltiples mRNA se organizan en módulos, cada uno de los cuales reconoce un conjunto específico de mRNAs. Como ejemplos, sRNA-OmrA, que se expresa principalmente en fase estacionaria e interactúa con 50 mRNAs, posee un módulo de 20 nucleótidos que participa en el 70% de las interacciones. Por otra parte sRNA-Spot42, que participa en el metabolismo de carbohidratos, tiene cuatro módulos, uno de los cuales interactúa con el 60% de los mRNA blanco. En Spot42, este módulo interactúa principalmente en la región codificante, mientras que los otros módulos lo hacen con la región 5'UTR. Resultados similares fueron obtenidos en el resto de los sRNA que interactúan con múltiples mRNA. Nuestros resultados sugieren que en *Escherichia coli* la interacción de un sRNA con múltiples mRNA blancos ocurre principalmente a través de zonas discretas en el sRNA las cuales interactúan con regiones en el mRNA blanco conservadas tanto en posición como en secuencia

Proyecto Fondecyt 1150834 a 00

**CLP3-40****Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productora de toxinas tipo Shiga desde heces de bovinos**

Antivero P<sup>1</sup>, Rivera D<sup>1</sup>, Jimenez M F<sup>1</sup>, Hervé L P<sup>2</sup>, Rivera D<sup>3</sup>, Hamilton-West C<sup>4</sup>, Moreno Switt A<sup>5</sup>, **Toro M<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Depto Ciencias Clínicas, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Programa de Doctorado en Nutrición y Alimentos Universidad de Chile. <sup>4</sup>Depto Medicina Preventiva, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. <sup>5</sup>Escuela Medicina Veterinaria, Fac. Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. (Sponsored by Angélica Reyes Jara)

**Introducción:** *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno transmitido por alimentos que puede causar cuadros de diarreas con y sin sangre, colitis hemorrágica y/o síndrome hemolítico urémico. Su principal reservorio es el bovino. Conocer el estado de portación en bovinos permite desarrollar medidas que prevengan la contaminación de carnes con el patógeno. **Metodología:** Se recolectó un total de 213 muestras de heces de bovinos desde predios de las regiones VI, X y XIV de Chile, entre los meses de Noviembre del 2015 a Julio 2016. Las muestras fueron sometidas a enriquecimiento y posterior tamizaje, y desde muestras positivas se aislaron colonias sospechosas a STEC, las que se confirmaron por la presencia de los genes *stx*<sub>1</sub> y/o *stx*<sub>2</sub> y pruebas bioquímicas para *E. coli*. Las cepas confirmadas se caracterizaron para la presencia de los factores de virulencia de la intimina (gen *eae*) y hemolisina (gen *hlyA*). Adicionalmente se realizó la detección de los serotipos más importantes de STEC (O26, O45, O103, O111, O121, O145 (grandes seis) y O157) a través de PCR. **Resultados:** Un 29,1% (62/213) de las muestras procesadas resultaron positivas para STEC. De las 62 cepas recuperadas, 11% contenía *stx*<sub>1</sub>, 73% *stx*<sub>2</sub> y 16% *stx*<sub>1</sub> y *stx*<sub>2</sub>. El gen de la intimina no fue detectado en ninguna de los aislados y un 34% fue positivo al factor de virulencia hemolisina. Ninguna de las cepas aisladas pertenece a los serogrupos O157 ni como parte de las grandes seis. **Conclusión:** STEC es un microorganismo de importancia en predios bovinos en Chile. Es necesario tomar medidas para evitar la contaminación de productos de origen animal, como leche y carnes, que pudieran llegar al consumidor y causar enfermedad.

Proyecto FONDECYT 11150491

**CLP3-41****Actividad antifúngica de P1G10 sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea***

**Torres M J<sup>1</sup>**, Vega Gálvez A<sup>1</sup>, Salas C<sup>2</sup>, Castillo L<sup>3,4</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ingeniería en Alimentos Universidad de La Serena. <sup>2</sup>Instituto de Ciências Biológicas Universidade Federal de Minas Gerais. <sup>3</sup>Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética Universidad de La Serena. <sup>4</sup>Departamento de Biología Universidad de La Serena. (Sponsored by Luis Castillo Barahona)

La inhibición de los hongos en la industria de los alimentos se ha focalizado principalmente en la utilización de procesos térmicos. Sin embargo, este proceso daña los productos alimenticios ya sea organolépticamente y/o nutricionalmente, lo cual ha conducido a que el consumidor prefiera el uso de compuestos naturales como alternativa para su control. En este contexto, se han descrito algunos inhibidores naturales como por ejemplo la enzima proteolítica bromelina derivada de la piña (*Ananas comosus*) que es capaz de inhibir el crecimiento de hongos filamentosos como *Fusarium verticillioides*, *F. oxysporum* y *F. proliferatum*. En Chile, la papaya (*Carica candamarcensis*) contiene enzimas proteolíticas que se encuentran en el látex de la fruta verde y su aislamiento ha derivado en un conjunto de enzimas denominada P1G10. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar la actividad antifúngica de P1G10 sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Para ello, se evaluó el crecimiento, la adhesión y germinación de la cepa de *B. cinerea* frente a la enzima P1G10. Los resultados obtenidos muestran que 1 mg/mL de la enzima inhibe el crecimiento de *B. cinerea* en un 80 % cuando es crecido a 20 °C durante 72 h. Por otro lado, *B. cinerea* presentó una reducción del 67 % de adhesión en superficie de poliestireno cuando las células fueron crecidas en conjunto con la enzima P1G10. Análisis de microscopia muestran que la formación de tubos germinativos se reduce drásticamente a las 4 y 6 horas en células tratadas con la enzima P1G10 en comparación con células crecidas sin la enzima. Estos datos confirman la actividad antifúngica que presenta P1G10 frente a *B. cinerea*, sin embargo se necesitan realizar más estudios para determinar cuál es el modo de acción de la enzima sobre *B. cinerea* y su posible aplicación en la industria de los alimentos.

**Proyecto Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética (NC120043)**

**Beca de Doctorado Nacional - CONICYT 21160455**

**CLP3-42****Estructura modelada *in silico* de la exopolifosfatasa de *Acidithiobacillus ferrooxidans***

**Torres-Paris C<sup>1</sup>**, Cáceres J<sup>1</sup>, Cabrera R<sup>1</sup>, Jerez C A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.  
(Sponsored by Carlos A. Jerez)

*Acidithiobacillus ferrooxidans* es una bacteria acidófila que forma parte del consorcio biominero. Este microorganismo es capaz de subsistir en ambientes con altas concentraciones de cobre. Se ha demostrado que *A. ferrooxidans* acumula gránulos de polifosfatos inorgánicos (PoliP), los cuales son polímeros lineales de residuos de ortofosfato unidos entre sí por enlaces fosfoanhídrido de alta energía. A estas moléculas se les ha asignado múltiples funciones, entre ellas, un posible papel en los mecanismos de resistencia a metales en bacterias y arqueas. Estudios previos de nuestro laboratorio han comprobado que cuando *A. ferrooxidans* se somete a un estrés por altas concentraciones de cobre, los niveles de PoliP disminuyen abruptamente en las primeras 4 h. Más aún, esos mismos experimentos sugirieron que la degradación de los PoliP se podría activar por Cu<sup>2+</sup>. Por otra parte, se ha propuesto que la exopolifosfatasa (PPX) es la enzima encargada de la hidrólisis de los PoliP en *A. ferrooxidans*. Hasta el momento, no se ha reportado ninguna estructura cristalizada o modelada de esta enzima. En este trabajo, se construyó un modelo por homología del dímero de la PPX de *A. ferrooxidans* (AfPPX) y se calculó la carga electrostática de su superficie. También se evaluó la conservación filogenética de los residuos de esta enzima. AfPPX tiene 4 dominios y su sitio activo se encuentra entre los dominios I y II, al igual que lo descrito para la PPX de *Escherichia coli*. En la interfaz entre los 2 monómeros, la proteína tiene un largo canal básico compuesto por residuos de histidina, arginina y lisina. Sin embargo, algunos de estos residuos no se encuentran conservados entre esta proteína y la EcPPX. Además, la proteína posee un túnel similar al descrito en que *E. coli* la atraviesa en la mitad del canal. Los resultados de este trabajo sugieren que las largas moléculas de PoliP (700 residuos de fosfato) presentes en *A. ferrooxidans* se podrían unir a la AfPPX a lo largo del canal básico, pasando a través del túnel para alcanzar el sitio catalítico e hidrolizar los PoliP en este microorganismo.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1150791

**CLP3-43****Serotipificación y resistencia antimicrobiana de *Listeria monocytogenes* aisladas de alimentos**

Cabrera R<sup>1</sup>, Troncoso M<sup>1</sup>, Reyes-Jara A<sup>1</sup>, Saluzzo J<sup>1</sup>, Figueroa G<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad de Chile. (Sponsored by Miriam Troncoso)

**Introducción:** *Listeria monocytogenes* (Lm) es un patógeno transmitido por alimentos responsable de producir listeriosis, una enfermedad grave en individuos inmunológicamente comprometidos. En Chile se ha descrito al serotipo 4b como el más frecuente en matrices alimentarias y se asocia a cepas virulentas. Por otro lado, el estudio de la resistencia a antibióticos permite seleccionar un adecuado tratamiento y también diseñar mejores estrategias para el control de este patógeno. Las matrices alimentarias involucradas en la enfermedad son relevantes para efectuar la relación epidemiológica del origen de los casos. El **objetivo** del presente estudio fue determinar el serotipo y la susceptibilidad a antimicrobianos en cepas de Lm aisladas de diferentes matrices alimentarias. **Metodologías:** Se analizó un total de 76 cepas de Lm recolectadas entre 2002 y 2016: Carne de vacuno (9), pollo (30), pavo (10), camarones (5), helados (3), quesos (6), mariscos (3), vegetales (4), embutidos (2) y salmón (4). La serotipificación se realizó mediante PCR y la susceptibilidad a antibióticos mediante difusión en agar. **Resultados:** Se observó que 58% de los aislados presentan el serotipo 1/2b-3b-7, mientras que 21% corresponden al serotipo 4b-4d-7 detectado con mayor frecuencia en aislados de carne de vacuno y pavo. Los serotipos 1/2a-3a y 1/2c-3c fueron detectados en 11% de los aislados. Un total de 22% de las cepas presentaron resistencia al menos a uno de los antibióticos evaluados y 13% del total presentaron resistencia a más de un antibiótico. Resistencia a tetraciclina, ampicilina, eritromicina, cloranfenicol y ciprofloxacino fue detectada en 13%, 12%, 11%, 5% y 1% de los aislados de Lm respectivamente. No se detectó resistencia a Sulfametazol-trimetoprim. Además no se detectó una relación entre el serotipo y la resistencia antimicrobiana. **Conclusiones:** El serotipo más frecuente de aislados locales de Lm fue el 1/2b-3b-7, en contraste con lo descrito previamente. Los aislados locales presentan baja frecuencia de resistencia a antibióticos.



**CLP3-44****Estrategias transcriptómicas para identificar moléculas neuroprotectoras de la dieta bacteriana de *C. elegans*.**

**Urrutia A<sup>1</sup>**, Realini O<sup>1</sup>, Caris C<sup>1</sup>, Andrea C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genómica y bioinformática, Biotecnología, Universidad Mayor.

La alimentación es la fuente primordial de nutrientes necesarios para el metabolismo de aminoácidos y neurotransmisores, y la regulación transcriptómica en el sistema nervioso. De este modo, metabolitos específicos presentes en la dieta, influenciarán de manera directa la habilidad del organismo de retrasar e incluso evitar el daño neuronal a diferentes niveles. Previamente observamos que en un modelo de degeneración neuronal de *C. elegans*, las neuronas del tacto, que expresan una degenerina constitutivamente activa, mueren en 72 horas, si los animales se alimentan de *E. coli* OP50. Sin embargo, si se alimentan de *E. coli* HT115, las neuronas son protegidas el doble de tiempo e incluso regeneran (Fuentes et al., en preparación). Para disectar cuáles componentes de HT115 protegen de la degeneración, hicimos un análisis transcriptómico de ambas bacterias, seguido de un análisis de expresión diferencial. La secuenciación de los transcriptomas se realizó con la tecnología Illumina Mi-Seq. El análisis de datos requirió la previa selección de secuencias para garantizar la calidad del análisis (FastQC, Trimomatic y CutAdapt), el ensamblaje de las lecturas (Bowtie) y la verificación y anotación de esos ensamblajes (HTSeq-Count). Luego de la normalización de los análisis (DESeq), se agruparon las diferencias significativas según los grupos funcionales relevantes y análisis ontogénicos (Blast2GO). Los análisis reflejan diferencias relevantes en la expresión génica para las enzimas descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y triptofanasa (TNase), y en menor proporción, aunque significativas, para proteínas reguladoras de transcripción y empaquetamiento de proteínas (RcsB, Hsp31). A través del análisis de grupos funcionales y rutas metabólicas asociadas (ver poster de Caneo et al.), se podrán describir los mecanismos necesarios para neuroprotección, desde un punto de vista transcriptómico y otro metabólico que lo respalde.

**CLP3-45****Contribución de SopB, SptP y PphB en la supervivencia intracelular de *Salmonella Typhimurium* en *Dictyostelium discoideum* y macrófagos RAW264.7**

Urrutia I M<sup>1</sup>, Salas B<sup>1</sup>, Valenzuela C<sup>1</sup>, Sabag A<sup>1</sup>, Labra B<sup>1</sup>, Álvarez S A<sup>1</sup>, Santiviago C A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Recientemente, hemos demostrado que *Salmonella Typhimurium* es capaz de sobrevivir dentro de la ameba *Dictyostelium discoideum*. Sin embargo, los mecanismos moleculares involucrados en este proceso no han sido caracterizados. En este trabajo, evaluamos la contribución de SopB, SptP y PphB en la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en *D. discoideum* y macrófagos murinos. SopB es una fosfatidilinositol fosfatasa requerida para la invasión de células epiteliales. SptP es una proteína bifuncional con un dominio GAP involucrado en la inactivación de GTPasas de la familia Rho y un dominio tirosina fosfatasa que contribuye en la replicación intracelular de *Salmonella*. Por otro lado, PphB es una serina-treonina fosfatasa no caracterizada. Para evaluar la contribución de estas proteínas en la supervivencia intracelular de *Salmonella*, construimos las cepas mutantes  $\Delta sopB$ ,  $\Delta sptP$  y  $\Delta pphB$  derivadas de la cepa virulenta *S. Typhimurium* 14028s por intercambio alélico. Posteriormente, se evaluó la supervivencia intracelular de la cepa silvestre, las mutantes y las mutantes complementadas en *trans* mediante ensayos de infección *in vitro* usando *D. discoideum* AX4 y macrófagos RAW264.7. Se permitió la infección por 1h a 22°C (*D. discoideum*) o 37°C (RAW264.7), usando una MOI de 100 bacterias/célula. Luego, se determinó el número de bacterias intracelulares a distintos tiempos de infección (0, 1, 3 y 5 horas) mediante dilución seriada y siembra en agar LB. Nuestros resultados mostraron que las tres mutantes presentan defectos en la supervivencia intracelular en *D. discoideum* entre los tiempos 1 y 5 h post infección en comparación con la cepa silvestre. El fenotipo observado se revirtió cuando las mutantes fueron complementadas en *trans*. Por otro lado, no observamos diferencias en los niveles de supervivencia intracelular entre las cepas mutantes y la cepa silvestre en macrófagos RAW264.7. En conjunto, nuestros resultados sugieren que los factores de virulencia SopB, SptP y PphB contribuyen en la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*, pero no en macrófagos murinos.

Financiamiento: FONDECYT 1140754 y becas CONICYT 21150005, 22151032, 21140615 y 22140758.

**CLP3-46****Identificación de genes que codifican para policétido sintasas (PKSs) en el hongo marino antártico *Pseudogymnoascus verrucosum***

Vaca I<sup>1</sup>, Vega F<sup>1</sup>, Vásquez G<sup>1</sup>, Henríquez M<sup>1</sup>, Gil-Durán C<sup>2</sup>, Chávez R<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (Sponsored by Renato Antonio Chávez Rosales)

Los hongos filamentosos de ambientes mesófilos son ampliamente conocidos por su capacidad de producir metabolitos secundarios. Sin embargo, esta capacidad ha sido poco estudiada en hongos filamentosos provenientes de ambientes extremos, particularmente aquellos de origen marino. Evidencias recientes indican que los hongos que habitan dichos ambientes son prometedores productores de metabolitos secundarios con estructuras químicas novedosas. Adicionalmente, se ha visto en estos organismos una mayor proporción de genes del metabolismo secundario sin función específica conocida.

En nuestro laboratorio disponemos de una cepa no identificada de un hongo marino antártico de la clase Leotiomyces, cuyos extractos del caldo de fermentación, analizados mediante <sup>1</sup>H-RMN, muestran una interesante capacidad de producción de metabolitos secundarios. En el presente trabajo, se muestran los resultados de la identificación molecular de este hongo y de la presencia de genes de policétido sintasas (PKSs), uno de los principales grupos de genes del metabolismo secundario fúngico, en su genoma.

Para la identificación del hongo, se determinó su posición filogenética respecto a las cepas tipo de hongos de la clase Leotiomyces (géneros *Geomyces* y *Pseudogymnoascus*). Para ello, se utilizaron cuatro marcadores moleculares concatenados. Los resultados indican que nuestro aislado está estrechamente emparentado con la especie *Pseudogymnoascus verrucosum*. Hasta donde conocemos, este sería el primer aislado de esta especie fúngica obtenido desde la Antártica. Por otro lado, mediante PCR se aislaron cuatro secuencias parciales de genes que codifican para proteínas con alta similitud a PKS de hongos de ambientes fríos. El análisis de estas secuencias mediante el software antiSMASH predice que sólo una de ellas estaría involucrada en la síntesis de un producto químico conocido, mientras que las otras tres corresponderían a PKS sin función específica conocida. Los resultados sugieren que *P. verrucosum* tiene el potencial genético para producir nuevos policétidos.

Este trabajo fue financiado por los proyectos Fondecyt 1150894 e INACH RG\_15-14

**CLP3-47****Identificación de bacterias en órganos inmunológicos de *Salmo salar*.**

Mick P<sup>1</sup>, Valdés N<sup>2</sup>, Garrido C<sup>2</sup>, Letelier L<sup>2</sup>, Fuentes L<sup>2</sup>, Muñoz C<sup>2</sup>, Tello M<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Biología USACG. <sup>2</sup>Biología USACH. <sup>3</sup>Biología, Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Los salmónidos son afectados por una serie de agentes de origen bacteriano, que además de causar una sintomatología característica, se han detectado frecuentemente en los órganos inmunológicos (bazo y riñón) de peces sanos. En otros peces, como Fugu, los órganos internos bazo e hígado son colonizados por ciertos grupos bacterianos presentes en el medio ambiente sin causar alguna patología. Hasta el momento se desconoce si en salmónidos los órganos internos bazo y riñón están normalmente colonizados por grupos bacterianos. Basado en los antecedentes mencionados proponemos como **hipótesis** que "En los órganos inmunes de *Salmo salar* (bazo y riñón) existen bacterias viables, no patógenas, las cuales son diferentes a las presentes en el tracto gastrointestinal". Para desarrollar esta hipótesis se planteó como **metodología**, aislar bacterias cultivables a partir de muestras de intestino, heces, bazo y riñón, las cuales fueron plaqueadas en medio TSA y TYES, e incubadas en microaerofilia y bajo condiciones normales de oxigenación a 20°C. Los aislados fueron caracterizados mediante secuenciación (Macrogen, Korea) del gen rRNA16S, el cual fue previamente amplificado con los primers universales 27F y 1492R. La identidad genética fue determinada mediante reconstrucción filogenética utilizando el programa MEGA 6.0, y la secuencia del rRNA16S. El transporte de bacterias desde el tracto gastrointestinal hacia bazo y riñón se evaluó administrando bacterias marcadas con GFP. Nuestros **resultados** muestran que existen bacterias cultivables en bazo y riñón, las cuales muestran diferencias morfológicas con las bacterias aisladas en intestino y heces. Las bacterias aisladas a partir de bazo y riñón pertenecen principalmente al género *Lactococcus*, mientras que en intestino se identificó *Pseudomonas*, y en heces bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Microbacterium*. Luego de la administración oral de bacterias marcadas con GFP, se obtuvo que éstas se localizaron en bazo y riñón, lugar donde permanecieron viable por tres días. Nuestros resultados permiten concluir que en peces sanos existen bacterias cultivables en los órganos inmunológicos del salmón, las cuales probablemente se transportan desde el tracto gastrointestinal. Las bacterias identificadas en bazo y riñón podrían servir para el desarrollo de probióticos con un tropismo específico por los órganos inmunes de salmónidos.

Proyecto CORFO 13CTI-21527

**CLP3-48****Metagenómica comparativa como una herramienta para la evaluación de la presencia y abundancia de fagos en ambientes acuáticos**

**Valencia R<sup>2</sup>**, Seeger M<sup>1</sup>, Orellana R<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental Universidad Técnica Federico Santa María. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt Universidad Técnica Federico Santa María.

Ampliar el conocimiento sobre la dinámica espacial y temporal de los fagos, o sea virus que afectan bacterias, a nivel global es un tema importante. Sin embargo, es poca la información que se tiene respecto a modelos utilizados para predecir la presencia de los bacteriófagos en comunidades microbianas complejas, como también la disponibilidad de herramientas eficientes para su aislamiento y descripción en laboratorio.

Como alternativa, nuestro trabajo presenta la utilización de herramientas metagenómicas para analizar una serie de metagenomas con el objetivo de cuantificar la presencia de fagos en ambientes acuáticos. A partir del servidor público, MG-RAST, se extrajeron un total 183 metagenomas asociados a hábitats marinos (HM) y 158 metagenomas extraídos desde estuarios (HE). Estos sets de metagenomas fueron contrastados con una base de datos de proteínas de fagos (PhanToMe) usando como programa de alineamiento DIAMOND. Los resultados indicaron que el fago [Planktothrix phagePaV-LD](#) y fago *Streptococcus* 20617 correspondieron a las especies de bacteriófagos estaban presentes en mayor abundancia, en HM y HE, respectivamente. Luego, se realizó un filtrado de aquellos metagenomas que están dentro del 15% con mayor cantidad de secuencias asociadas a especies pertenecientes a la clase *Deltaproteobacteria*, asociado a bacterias sulforreductoras, como ejemplo de comunidad bacteriana específica y, solo tomando estos metagenomas se repitió el análisis anterior. Se encontraron predominando en abundancia fagos de tipo *Siphoviridae*, *Myoviridae* y *Podoviridae*, caracterizados en publicaciones como fagos presentes en diversos ambientes.

Se ha observado que ciertos bacteriófagos y grupos de virus se presentan de forma sistemática en ambos análisis (fagos *Planktothrix*, fagos *Prochlorococcus*), así como también aparece dentro de la lista de más abundantes algunos fagos no cultivados (fago mediterráneo no cultivado), dando lugar al posible uso de la herramienta para evaluar de forma plausible la abundancia de los fagos y encontrar aquellos que no han sido previamente caracterizados.

PAI-Rex 82140028

**CLP3-49*****Salmonella* Typhimurium requiere a los efectores SopB y SifA para sobrevivir intracelularmente en un compartimento vacuolar en *Dictyostelium discoideum***

**Valenzuela C<sup>1</sup>**, Sabag A<sup>1</sup>, Varas M<sup>2</sup>, Urrutia Í<sup>1</sup>, Morgado C<sup>1</sup>, Labra B<sup>1</sup>, Chávez F P<sup>2</sup>, Santiviago C A<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

*Salmonella* es capaz de sobrevivir intracelularmente debido a su capacidad de generar un nicho replicativo conocido como la "vacuola contenedora de *Salmonella*" (SCV). Este proceso está mediado por proteínas efectoras inyectadas por los sistemas de secreción de tipo 3 codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2 (T3SS<sub>SPI1</sub> y T3SS<sub>SPI2</sub>, respectivamente). Recientemente, reportamos que estos sistemas son necesarios para la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en la ameba *Dictyostelium discoideum*. En este trabajo, evaluamos el rol de las proteínas efectoras SopB y SifA en la interacción de *Salmonella* con *D. discoideum*. SopB es una fosfatidil-inositol fosfatasa secretada por el T3SS<sub>SPI1</sub> involucrada en la modificación de fosfoinosítidos en la membrana de la SCV. Por su parte, SifA es una proteína secretada por el T3SS<sub>SPI2</sub> involucrada en la formación de una red de estructuras membranosas que se extienden desde la SCV denominadas "filamentos inducidos por *Salmonella*" (Sifs). Realizamos ensayos de supervivencia intracelular utilizando cultivos de *D. discoideum* AX2 infectados con la cepa silvestre *S. Typhimurium* 14028s, las mutantes  $\Delta$ sopB y  $\Delta$ sifA y las respectivas cepas mutantes complementadas en *trans*. Nuestros resultados muestran que las mutantes  $\Delta$ sopB y  $\Delta$ sifA se recuperan ~5 veces menos que la cepa silvestre a las 6 horas de infección y este fenotipo es complementado al introducir un plasmidio conteniendo una copia silvestre del gen mutado en las cepas correspondientes. Posteriormente, decidimos evaluar si *Salmonella* se encontraba en el interior de una vacuola similar a una SCV en *D. discoideum*. Para esto, realizamos infecciones de una cepa derivada de *D. discoideum* AX2 que expresa una fusión de la ATPasa vacuolar a GFP (VatM-GFP) utilizando una variante de la cepa silvestre *S. Typhimurium* 14028s que expresa la proteína fluorescente roja mCherry. Cuando las células infectadas se analizaron mediante microscopía confocal, detectamos la marca fluorescente asociada a VatM-GFP en vacuolas que contenían bacterias viables en todos los tiempos estudiados. En conjunto, nuestros resultados sugieren que *S. Typhimurium* reside en *D. discoideum* dentro de un compartimento similar a la SCV y que los efectores SopB y SifA son requeridos para su supervivencia intracelular en esta ameba.

Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1140754 y 1120209 y las becas CONICYT 21140615, 22140758, 21120431 y 21150005.



**CLP3-50****Tratamiento de las aguas de retorno de un digester de lodos mediante un sistema SBR nitrificante**

**Valenzuela-Heredia D<sup>1</sup>**, Campos J L<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Energía y Medio Ambiente, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Adolfo Ibáñez.

En las plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS), la corriente proveniente del deshidratado de los lodos, que contiene 1,5-2,0 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> · L<sup>-1</sup>, se recircula habitualmente a la entrada de las mismas, empeorando la calidad del efluente final. Dadas las características de esta corriente, los procesos de nitrificación parcial-Anammox son los más adecuados para su tratamiento. En este trabajo se presentan resultados relativos a la operación del sistema de nitrificación parcial con el que se pretende obtener la oxidación del 50% del amonio a nitrito para aplicar posteriormente un sistema Anammox. El proceso de nitrificación parcial se llevó a cabo en un sistema SBR (Sequential Batch Reactor) de 3 L que se operó con una relación de intercambio volumétrico del 50% y que fue inoculado con un lodo mixto de una PTAS. En una primera fase, se aplicaron ciclos de operación de 3 h y se alimentó con la corriente del deshidratado de lodos diluida, aumentando progresivamente la concentración de alimentación de 100 a 1.400 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> · L<sup>-1</sup>. Al final de esta fase, se alcanzó una concentración de biomasa de 6 g SST · L<sup>-1</sup> que una vez sedimentada su nivel alcanzaba el puerto de descarga por lo que no fue posible acumular más biomasa. El amonio fue oxidado un 25% a nitrito, a una velocidad de carga de 1,4 g N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> · L<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, mientras que el 25% restante fue oxidado a nitrato. En una segunda etapa, se operó el sistema con ciclos de 4 h y con la corriente del deshidratado de lodos sin diluir, manteniéndose constantes los porcentajes de producción de nitrito y nitrato. Dado que el nitrato es un producto no deseado, en una tercera etapa de operación se está llevando a cabo la purga de lodo con el fin de realizar un lavado selectivo de las bacterias oxidantes de nitrito.

Proyecto FONDECYT Regular 1150285 (Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología - Chile)

UAI 2030 (Universidad Adolfo Ibáñez - Chile)



**CLP3-51****Humanización de pez Cebra como modelo de estudio del rol de la Microbiota Intestinal humana**  
(Zebrafish humanization as a model for the study of the role of the human intestinal microbiota)

**Valenzuela M J**<sup>1</sup>, Herrera Y<sup>1</sup>, Caruffo M<sup>1</sup>, Navarrete P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad De Chile. (Sponsored by Paola Alejandra Navarrete Wallace)

La microbiota intestinal humana (MIH) está constituida por un complejo ecosistema microbiano. El rol de estos microorganismos (mo), en su mayoría anaeróbicos, en la salud y enfermedad del huésped, aún no ha sido descrito a cabalidad, en parte, por la falta de modelos biológicos de fácil manejo. El pez cebra (*Danio rerio*) se ha usado como un modelo para el estudio de interacciones microbiota/patógeno/hospedero, debido a diversas ventajas, en comparación con modelos murinos. Sin embargo, debido a que el intestino del pez es mayoritariamente aeróbico, sólo se ha implantado 1 bacteria anaerobia de la MIH. Hipotetizamos que la pre-inoculación de larvas con mo microaerófilos y sintróficos facilitaría la implantación de anaerobios de la MIH **Objetivo:** Desarrollar un modelo humanizado en pez cebra, mediante la inoculación secuencial de mo, con el fin de promover la colonización de anaerobios. **Métodos:** 5 grupos de larvas (n=60) de 3 días post-fertilización (dpf), fueron inoculadas mediante inmersión ( $10^8$ UFC/mL) de 1) *Lactobacillus acidophilus* (La), 2) *Bifidobacterium adolescentis* (Ba), 3) *Clostridium* sp. (Cl) 4) las 3 cepas inoculadas cada 1h (La+Ba+Cl) 5) 3 cepas inoculadas día 3, 4 y 5 dpf, respectivamente. Se evaluó la inocuidad de los mo y su capacidad de colonización en el pez, por cultivo en MRS, MRS-0,05% L-cisteína y NN, hasta el 7 dpf. **Resultados:** todas las cepas fueron inocuas. La y Ba colonizaron las larvas hasta el 5 dpf, mientras que Cl, hasta el 7 dpf. La inoculación simultánea no alteró el patrón de colonización de cada bacteria. Los resultados muestran que la colonización exitosa del anaerobio Cl en las larvas, no se vio favorecida por la pre-inoculación de La y Ba **Conclusión:** Los resultados muestran que es posible colonizar zebrafish con el anaerobio Cl y sugieren que otros mecanismos podrían estar implicados en la colonización, como la esporulación de este mo.

PROYECTO UNIVERSIDAD DE CHILE, ENLACE ENL010/15

**CLP3-52****Análisis bioinformático para comprender la vía de síntesis del pigmento producido por la cepa *exiguobacterium aurantiacum* pn47 aislada del Salar del Huasco, región de Tarapacá**

**Vallejos C<sup>1</sup>**, Estay R<sup>1</sup>, Strahsburger E<sup>2</sup>, Ponce R<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular, Recursos Naturales y Renovables, Universidad Arturo Prat. <sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular. Programa de Doctorado en Agronomía del Desierto y Zona Áridas, Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat.

*Exiguobacterium AURANTIACUM* PN47 es una bacteria extremófila aislada desde los sedimentos del Salar del Bionfotmatic analysis to understand the biosynthetic pathway of pigment produced by *Exiguobacterium AURANTIACUM* PN47. strain isolated from Salar del Huasco, Tarapacá región. Huasco sector ubicado en la Región de Tarapacá en el norte de Chile. Esta especie Gram positiva no formadora de esporas, se caracterizada por poseer resistencia a metales pesados y crecimiento en medios alcalinos, además de la síntesis de un pigmento naranja que no es liberado al medio. El aislamiento de este pigmento mediante extracción alcohólica y análisis espectroscópico, mostró un perfil de absorbancia y un máximo a 450 nm que sugieren ser la menaquinona del tipo carotenoide descrita en otras especies de *Exiguobacterium*. Este pigmento tiene un gran potencial de aplicaciones biotecnológicas en el área de los alimentos y la acuicultura. Con el objeto de comenzar a estudiar la síntesis de este pigmento en la cepa *AURANTIACUM* PN47, el genoma fue secuenciado mediante la secuenciación masiva Illumina y sus genes analizados mediante bioinformática. En este genoma de 2.886.173 pb que posee un 51% de GC se han identificado los genes *crtI*, *hnd*, *ribC*, *ribD*, *ribBA*, además del posible operon *menECBHDFa*, los cuales se han descrito en la síntesis de pigmento de color naranja en otros microorganismos. La identificación de estas rutas metabólicas y el análisis del pigmento permitirán establecer estrategias experimentales dirigidas a comprender la vía de síntesis de este pigmento en la cepa *Exiguobacterium AURANTIACUM* PN47.

Vicerrectoria Académica de la Universidad Arturo Prat, Proyecto DE1549 y Vicerrectoria de Investigación, Innovación y Postgrado de la Universidad Arturo Prat Proyecto, VRIIP0220-15, VRIIP0218-15

**CLP3-53****Caracterización de una beta-lactamasa AmpC de un aislado antártico de *Pseudomonas* con la capacidad de hidrolizar antibióticos betalactámicos de importancia clínica**

Vásquez F<sup>1</sup>, Higuera-Llanten S<sup>1</sup>, Marshall-Gonzalez S<sup>1</sup>, Olivares-Pacheco J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. (Sponsored by Jorge Andrés Olivares Pacheco)

La problemática de resistencia a los antibióticos es un tema de importancia mundial debido a la aparición de cepas resistentes. En los últimos años se ha planteado que los microorganismos ambientales incluso en entornos aparentemente libres de antibióticos poseen un número enorme y diverso de genes de resistencia a estas moléculas. Uno de los mecanismos más generalizados de resistencia a los antibióticos betalactámicos y principalmente descrito en microorganismos patógenos son las beta-lactamasas, cuyo mecanismo de acción es producir la hidrólisis del anillo funcional inactivando penicilinas, cefalosporinas y moléculas relacionadas. Los genes que codifican beta-lactamasas son ancestrales y se han encontrado en entornos remotos y alejados de la actividad humana. Poco explorado ha sido el nivel de resistencia a antibióticos en microorganismos ambientales, especialmente de la Antártida, no existiendo estudios que hayan determinado el mecanismo de resistencia, caracterizaciones enzimáticas y niveles de resistencia a diferentes antibióticos. En esta investigación se obtuvo la proteína AmpC recombinante desde la cepa *Pseudomonas sp* IB20 perteneciente al complejo *fluorescens* aislada desde la Antártida. Con esta proteína se hicieron estudios cinéticos los cuales se compararon con la enzima recombinante proveniente del patógeno *Pseudomonas aeruginosa*. Por otra parte se determinaron los niveles de resistencia que genera esta enzima en un sistema heterólogo. Nuestros resultados muestran que la beta-lactamasa AmpC antártica tiene una mayor velocidad al hidrolizar el compuesto nitrocefina en comparación a los parámetros que presenta AmpC de *P. aeruginosa*. Finalmente se comprobó a nivel funcional que la cepa de *E. coli* TOP-10 con el plásmido que contiene AmpC presenta un aumento en la resistencia a diversos antibióticos betalactámicos de importancia clínica como ceftazidima, imipenem, piperacilina meropenem, doripenem y amoxicilina, proponiendo de esta manera una de las primeras beta-lactamasas de origen ambiental con la capacidad de hidrolizar estas moléculas

Proyectos de Investigación de la Dirección de Investigación de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

**CLP3-54****Genes de resistencia a antibióticos de microbiomas marinos muestreados en Tara Oceans Dataset del Océano Pacífico Sur**

**Vera-Wolf P<sup>1,2</sup>**, Melis F<sup>2,1</sup>, Ugalde J A<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo. <sup>2</sup>Programa de Genómica Microbiana, Facultad de Medicina CAS, Universidad del Desarrollo.

Existe preocupación mundial sobre las potenciales consecuencias de la dispersión de genes que codifican para resistencia a antibióticos. La mayoría de los genes que proporcionan resistencia pueden ser adquiridos desde el medio ambiente, actuando estos como potenciales reservorios de mecanismos de resistencia. En ambientes marinos, hay evidencia que sugiere la transferencia de genes de resistencia (GR) entre microorganismos, pero su presencia y abundancia en regiones que conciernen a Chile ha sido pobremente estudiada. En una escala global, el proyecto de Tara Oceans generó un catálogo del contenido genómico de muestras ambientales de los océanos, produciendo un total de 7.2 terabases que abarca las mayores regiones oceánicas del mundo. Estos datos nos sirven como un punto de partida para estudiar la diversidad y frecuencia de GR en ambientes marinos del hemisferio sur, considerando muestras de origen epipelágico y mesopelágico del Océano Pacífico. Para ello se obtuvieron secuencias provenientes de los datos de Tara Oceans, para 26 puntos correspondientes a tres biomas marinos (Longhurst): Provincia de Corriente costera Chile-Perú (CHIL), Giro subtropical del pacífico sur (SPSG) y Provincia de la divergencia ecuatorial (PEOD). Las lecturas se compararon contra la base de datos de GR, ResFinder usando la herramienta Diamond y sus hits fueron normalizados en base al número de lecturas por muestra. Con estos resultados, se estimó la diversidad y abundancia de GR a antibióticos en base a la frecuencia de los conteos. La clasificación de frecuencia resultante muestra que en las tres provincias existe mayor abundancia de GR asociados a antibióticos beta-lactámicos y aminoglucósidos, y los menos abundantes a colistina y ampicilina. A partir de estos resultados, surge la interrogante si la presencia de estos genes es consecuencia de afluencias costeras desde biomas terrestres, o han surgido como respuesta a antibióticos propios del ambiente marino.

FONDECYT 11140666

**CLP3-55****Análisis de genes de enzimas hidrolíticas en células SHK-1: eventuales factores de virulencia de *Piscirickettsia salmonis***

**Villagrán-Mancilla D<sup>1</sup>**, Haussmann D<sup>1</sup>, Lagos F<sup>1</sup>, Isla A<sup>1</sup>, Figueroa J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. (Sponsored by Jaime Figueroa Valverde)

En Chile la industria acuícola ha sido afectada por distintos patógenos, así la Piscirickettsiosis o Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS) está dentro de las primeras causas de mortalidad de salmónidos, repercutiendo en aspectos económico-sociales. A pesar de la implementación de diversos métodos para el manejo de *Piscirickettsia salmonis* no se ha controlado la prevalencia de la enfermedad, por ello es importante conocer los mecanismos que genera la infección, identificando los factores de virulencia que posee.

Dentro de los factores de virulencia bacteriana se encuentran las enzimas hidrolíticas o enzimas degradativas que disgregan los tejidos, proporcionando así los nutrientes para el crecimiento de los microorganismos y facilitando la extensión de la infección bacteriana.

En este trabajo se realizó un análisis bioinformático para la identificación de genes relacionados con enzimas hidrolíticas de 10 cepas secuenciadas masivamente en el laboratorio, de las que se seleccionaron 2 genes de interés. Uno para hemolisina, proteína que produce lisis de los eritrocitos, mediante la producción de poros en la membrana citoplasmática y un putativo gen para metaloproteasa, [enzima](#) que genera proteólisis y descompone colágeno y para su funcionamiento es necesaria la presencia de metales como átomos de Zinc o Cobalto. Posterior a la selección de los genes se evaluó los niveles de expresión de estos genes mediante infección *in vitro* de células SHK-1 con dos cepas de *P. salmonis* usando RT-qPCR. Las cepas utilizadas fueron la cepa tipo LF-89 y IBM-40 (cepa de campo).

Como resultado se obtuvo una variación en la expresión del transcrito en las bacterias que se encontraban infectando las células SHK-1 con respecto a las bacterias en medio líquido. El análisis de esta información ayudará a conocer los procesos que utiliza este patógeno para desarrollar la infección y la enfermedad en los salmónidos y entregará herramientas para su control a futuro.

Proyectos FONDECYT 1130069 y FONDAP 15110027.

**CLP3-56****Estudio de la diversidad de Actinobacterias marinas de la X región de Los Lagos y evaluación de genes PKS y NRPS como marcadores de actividad biológica.**

**Wittwer G**<sup>1,2</sup>, Cámara B<sup>2,3</sup>, Michael S<sup>3,2</sup>, Godoy Rojas F<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro i-mar Universidad de Los Lagos. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología Dr. Daniel Alkalay Lowitt? Universidad Técnica Federico Santa María. <sup>3</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Química, Universidad Técnica Federico Santa María.

La continua exploración de nuevos fármacos de origen natural para el tratamiento de diferentes enfermedades humanas, animales y vegetales, se ha enfocado la búsqueda de compuestos de origen natural con actividad biológica en ambientes marinos. Las bacterias marinas del filo *Actinobacteria* han demostrado exhibir la capacidad de producir una amplia gama de compuestos con múltiples actividades biológicas como antimicrobianas, antitumorales, antivirales, antiparasitarias, inductores de crecimiento en plantas, insecticidas entre otras. Estas bacterias se encuentran ampliamente distribuidas en ambientes marinos, pero su mayor diversidad se encuentra en sedimentos y esponjas. Como marcadores moleculares del potencial metabólico y biotecnológico de estas bacterias se utiliza la verificación de la presencia de genes pertenecientes a dos vías metabólicas muy importantes relacionada con la producción de metabolitos secundarios en bacterias; las vías poliquétido sintasa (PKS) y péptido ribosomal sintetasa (NRPS). El presente estudio se realizó el aislamiento de 1728 cepas de esponjas y 693 cepas de sedimentos provenientes de la X región de los lagos. La secuenciación del gen rRNA 16S demostró que cerca del 20% de estas cepas pertenecían al Filo *Actinobacteria*, encontrándose una amplia diversidad compuesta por 22 géneros diferentes. Entre los géneros más representativos encontrados en las muestras podemos nombrar *Streptomyces spp.*, *Rhodococcus spp.*, *Nocardiosis spp.* y *Arthrobacter spp.* Para determinar el potencial biotecnológico de estas cepas se realizó un *screening* para detectar la presencia de los genes PKS I, PKS II, PKS III y NRPS. Obteniéndose como resultado que el 80% de las cepas poseían la presencia de uno de estos genes, predominando la presencia de vía NRPS. Y cerca al 50% de las cepas analizadas poseían genes de 2 o más de las vías de síntesis analizadas. Estos resultados demuestran que las Actinobacterias marinas poseen un amplio potencial para la búsqueda de compuestos naturales con actividad biológica, además que los sedimentos y esponjas de la X región de los Lagos posee una amplia diversidad de Actinobacterias marinas.

Gastos operacionales Beca Conicyt Doctorado Nacional número folio 21140293

Proyecto INNOVA 13IDL2-18532 "Obtención y desarrollo de nuevas fuentes de colorantes naturales para la industria de alimentos mediante bioprospección en microorganismos acuáticos"

**CLP3-57****Caracterización bioquímica de glucosa oxidasa, fosfatasa alcalina e invertasa, producidas por levaduras adaptadas al frío**

**Yuivar Y<sup>1</sup>**, Barahona S<sup>1</sup>, Alcaíno J<sup>1</sup>, Cifuentes V<sup>1</sup>, Baeza M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Ecológicas, Ciencias, Universidad de Chile.

Las enzimas glucosa oxidasa (GOx), invertasa (Inv) y fosfatasa alcalina (FA) son muy utilizadas en las industrias de alimentos, vinos, pan, medicina y farmacología. Actualmente, la mayoría de estas se obtienen desde microorganismos mesófilos, pero estas enzimas poseen una baja actividad catalítica a temperaturas menores a 20°C. La tendencia actual es disminuir los costos asociados a elevar la temperatura en los procesos industriales, objetivo que se lograría con el uso de enzimas con alta actividad catalítica a bajas temperaturas. Una alternativa son las enzimas producidas por microorganismos adaptados al frío. Previamente, se analizaron y purificaron las enzimas GOx, FA e Inv desde *Cryptococcus gastricus*, *Dioszegia sp.* y *Wickerhamomyces anomalus*, respectivamente, levaduras aisladas desde la región sub-antártica. El objetivo de este trabajo fue determinar los factores que más afectan a estas actividades, medir los parámetros bioquímicos de estas enzimas ( $K_m$ ,  $K_{cat}$ ,  $V_{máx}$  y  $K_{cat}/K_m$ ), así como sus temperaturas y pH óptimos. Se aplicó el diseño de Plackett-Burman para determinar los factores que más afectan a cada actividad enzimática. En el caso de GOx, la temperatura y la concentración de  $Ca^{2+}$  fueron los mayores factores, mientras que la temperatura y el pH fueron los factores más importantes para la actividad Inv y FA. Usando diferentes concentraciones de sustrato se obtuvo que las tres enzimas poseen una cinética de Michaelis-Menten, lo cual permitió obtener, a través de la representación de dobles recíprocos, los valores de  $K_m$  (1.10, 16.22 y 0,079 mM),  $K_{cat}$  (841.61, 260.03 y 34.7  $seg^{-1}$ ),  $V_{máx}$  (12876, 5837.5 y 1783.6  $ug/seg$ ) y  $K_{cat}/K_m$  (765.1, 16.1 y 439.2  $seg^{-1} mM^{-1}$ ) de las cepas GOx, Inv y FA, respectivamente.

Proyecto Fondecyt 1130333



**CLP3-58****Evaluación de la respuesta inmunológica de salmónidos en cultivo, frente al proceso de vacunación**  
(Immunological response evaluation of salmonids in culture against vaccination process)

**Escrig D**<sup>1,2</sup>, Fuentes Y<sup>1</sup>, Andrade C<sup>1</sup>, Vargas D<sup>1,3</sup>, Imarai M<sup>1</sup>, Sandino A M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Virología Consorcio ICTIO Biotechnologies. <sup>3</sup>Laboratorio de Virología Consorcio ICTIO Biotechnologies. (Sponsored by Ana María Sandino)

Chile es el segundo productor de salmónes a nivel mundial, pero esta industria ha sufrido grandes crisis económicas debido a la mortalidad provocada por dos patógenos principales, *Piscirickettsia salmonis* (SRS), una bacteria gram negativa intracelular, facultativa, y el virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAv). Debido a esto, se han desarrollado diversas vacunas comerciales las cuales no han tenido el efecto esperado, disminuyendo en un 40% la mortalidad de los salmónidos vacunados, por lo tanto, existe controversia respecto al real efecto que tendría la vacunación en entregar protección a largo plazo. Adicionalmente, las vacunas inyectables provocan estrés, lo que disminuye la capacidad de respuesta inmune frente a patógenos. En este trabajo, se busca determinar el efecto de dos vacunas comerciales, Bluegrad de Cetrovet y Provideam Aquatec4 de Anasac, en la respuesta inmune de los peces. Específicamente, se evaluaron los niveles de expresión relativa de los genes codificantes para citoquinas y proteínas relacionadas con inmunidad innata y adaptativa mediante qRT-PCR, estableciendo cambios en la respuesta de citoquinas pro-inflamatorias, anti-virales, anti-inflamatorias, marcadores de linfocitos T y respuesta del sistema de complemento. Se utilizaron muestras de órganos de peces vacunados con Bluegrad y mantenidos en cultivos de recirculación y muestras de peces vacunados con Provideam Aquatec4 y mantenidos en cultivo abierto, dentro de cada grupo se analizaron 45 muestras pre-vacunación y 45 muestras 10 días post-vacunación. Los resultados obtenidos muestran diferencias en la expresión de los genes relacionados con la respuesta inmune frente a las vacunas, obteniéndose una estimulación de la respuesta anti-viral y pro inflamatoria al utilizar la vacuna Blueguard, mientras que al utilizar la vacuna Provideam Aquatec 4 se observó una menor respuesta anti-viral y una mayor respuesta anti-inflamatoria. Esta estimulación puede no deberse exclusivamente al efecto de la vacuna utilizada, ya que otro trabajo determinó que los peces en cultivo de recirculación tienen menor estrés oxidativo que aquellos en cultivo abierto, lo que puede producir una mejor respuesta inmune frente a SRS e ISAv.

**CLP3-59****Epidemiología de la Onicomycosis en la Ciudad de Valdivia, Chile (Epidemiology of Onychomycosis in the City of Valdivia, Chile )**

**Godoy-Martínez P<sup>1</sup>**, Catalán P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Medicina, Universidad Austral de Chile.

**Introducción:** La onicomycosis es una patología que hoy en día continúa en aumento, a pesar de la mejoría en la calidad de vida y la higiene personal, ha sido considerada como la micosis superficial más difícil de diagnosticar y tratar. Esta infección es considerada un problema de salud pública, no por la gravedad del cuadro, sino más bien por el gran número de casos manifestados. Se estima que afecta de un 2 a un 18% de la población mundial y representa el 30% de las micosis superficiales. **Objetivo:** Determinar el rendimiento del examen microscópico directo en relación al cultivo e identificar fenotípicamente los principales hongos filamentosos y levaduriformes aislados en pacientes con onicomycosis. **Métodos:** Se analizaron 360 muestras de escamas de uña de pie y mano obtenidas entre 2009 y 2015, de 335 pacientes atendidos en el Instituto de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile. Las especies fueron identificadas en base a su micromorfología observada de los microcultivos en agar papa para hongos filamentosos, además de microcultivos en agar arroz y la técnica del auxonograma para levaduras. **Resultados:** Se observó mayor prevalencia en mujeres con edades entre los 46 y 60 años. Un 55% del total de muestras presentó resultados positivos al examen directo. En los cultivos de uña de pie se observó un mayor aislamiento de hongos filamentosos donde *T. rubrum* fue el agente más frecuente seguido de *Cladosporium* spp, mientras *C. guilliermondii*, *Candida* spp. y *Trichosporon* spp. fueron las levaduras más aisladas. En los cultivos de uña de mano hubo mayor desarrollo de levaduras, dentro de las cuales *C. albicans* fue la más aislada. **Conclusión:** Se sostiene por tanto, que una adecuada identificación del agente etiológico es vital para un correcto diagnóstico y por ende una eficaz elección terapéutica.

Instituto de Microbiología Clínica

**CLP3-60****Análisis de expresión de genes de respuesta inmune en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) desafiado con *Piscirickettsia salmonis***

**Gomez F<sup>1</sup>**, Flores-Herrera P<sup>1</sup>, Cortés L J<sup>1</sup>, Marshall S<sup>1</sup>, Schmitt P<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Biología, Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

*Piscirickettsia salmonis* es una bacteria Gram-negativa, agente etiológico de la Piscirickettsiosis, uno de los principales problemas sanitarios de la salmonicultrura chilena. A la fecha no existen medidas de control eficaces para la enfermedad debido al escaso conocimiento del efecto de la infección en el estado inmune del pez, así como también de los mecanismos de virulencia del patógeno. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la infección de *P. salmonis* en la expresión de genes de respuesta inmune innata y adaptativa en *Salmo salar*. Para respuesta inmune innata se analizaron: factor de necrosis tumoral TNF- $\alpha$ , la quimioquina IL-8, la citoquina proinflamatoria IL-1 $\beta$ , la citoquina inductora de células-T IL-12 y la citoquina antiinflamatoria IL-10. Para respuesta inmune adaptativa se evaluaron el marcador CD83, la cadena alfa del MHCII, la cadena pesada de IgM y el marcador de linfocitos-T citotóxicos CD8a. Las evaluaciones se realizaron en bazo y riñón anterior a los días 0, 3, 7 y 15 post-desafío con *P. salmonis* LF-89. Se observó una sobreexpresión de los genes de respuesta inmune innata en peces desafiados, con una inducción más temprana en bazo que en riñón anterior. Estos resultados son coherentes con una activación normal de la respuesta innata: sobreexpresión de citoquinas proinflamatorias seguido por citoquinas antiinflamatorias. Las quimioquinas como inductoras de quimiotaxis e IL-12 como activadora de inmunidad celular adaptativa también se ven fuertemente expresadas en peces desafiados. Sin embargo, no se observó sobreexpresión de los genes de respuesta adaptativa, salvo de IgM, lo que sugiere que los tiempos evaluados fueron tempranos para observar su activación. Por otro lado, la dosis bacteriana utilizada suprimir la activación de la inmunidad adaptativa, que es más lenta en peces que en vertebrados superiores. Se propone evaluar una dosis subletal de *P. salmonis* y muestreos por al menos 40 días post-desafío.

Trabajo financiado por proyecto FONDECYT 11130407 y proyecto COPEC-UC 2014.J.116

**CLP3-61****Virulence and Pathogenic Effect of Influenza A(H1N1)pdm09 Genetic Variants with Different Plaque Phenotypes**

**Rathnasinghe R<sup>1</sup>**, Barrera A<sup>1</sup>, Almonacid L<sup>1</sup>, Tapia K<sup>1</sup>, Medina R<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>2</sup>Department of Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Mount Sinai, NY, USA.

The H1N1pdm09 virus responsible for the human influenza A pandemic in 2009 is a triple reassortant virus containing swine, human and avian genes. Genetic variations within a virus population can play an important role in its replicative capability and the outcome of viral infection. We identified and isolated two variants of the A/Netherlands/602/2009 (Neth/602) H1N1pdm09 strain, which showed a large (BP) and small (SP) plaque phenotypes, respectively. Both viral variants grew to high titers and produced cytopathic effect *in vitro* in MDCK cells. The SP virus demonstrated a faster replication kinetic at early stages of a multicycle growth curve, reaching higher titers at 32 hours before plateauing at similar level 48 hrs post infection in MDCKs. When C57BL/6 mice were infected with both variant the SP virus produced increased weight loss as compared to the BP virus. To elucidate the genetic differences of both variants responsible for their plaque and virulence phenotype, we sequenced their full genome. The viral variants contained 4 mutations compared to the original Neth/602 isolate. Two of these mutations were present in the Hemagglutinin (HA-G172E) and Nucleoprotein (NP-G431R) proteins of the BP variant. The SP virus had mutations in the Polymerase Basic protein 2 (PB2-S155C) and in the Neuramidase (NA-I407V). Utilizing an *in vitro* minigenome assay to investigate replication activity, we found a higher polymerase activity when the NP-431R from the BP virus was used in comparison to both WT and SP proteins, suggesting that this polymerase activity might be responsible for the BP plaque phenotype. To investigate the differential effect of each amino acid in virulence and replication kinetics, we are currently utilizing a reverse genetic approach to generate recombinant viruses harbouring individual mutations. These analyses might aid us to evaluate the virulence of clinical isolates with differential plaque phenotypes isolated from influenza A patients.

FONDECYT 1121172, 1161791 and Proyecto Anillo PIA ACT 1408all from CONICYT, and Program Iniciativa Científica Milenio from the Chilean Ministry of Economy, Development and Tourism grant P09/016-F.

**CLP3-62****Potencial actividad antioxidante en biomasa de la microalga *Muriellopsis sp.* aislada desde el desierto de Atacama**

**Cruz-Balladares V<sup>1</sup>**, Díaz D<sup>1</sup>, Infante C<sup>1</sup>, Marticorena P<sup>1</sup>, Bazaes J<sup>1</sup>, Riquelme C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

La biomasa de microalgas posee componentes que han sido poco explorados hasta ahora. Estudios han demostrado que poseen altas cantidades de carotenoides, por lo que podrían ser una rica fuente en componentes antioxidantes. La microalga *Muriellopsis sp.*, aislada desde el desierto de Atacama, presenta cambios en la pigmentación durante su crecimiento. Además, es posible cultivarla tanto en agua de mar como en agua dulce, lo que permite proponer que posee una potencial capacidad antioxidante que puede ser regulada por el sistema de cultivo. Para evaluar esto, se ha propuesto analizar la capacidad antioxidante de la microalga en diferentes etapas de su curva de crecimiento y en medios de cultivo con agua dulce. Dentro de los objetivos específicos planteados se encuentra la extracción de carotenoides totales utilizando solventes orgánicos; cuantificar el contenido de carotenoides y cuantificar la capacidad antioxidante de éstos, para lo cual se determinará la Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), la actividad de eliminación de radicales (DPPH) y la reducción de ión férrico (FRAP). Estas técnicas permitirán realizar un análisis comparativo y determinar la capacidad antioxidante de *Muriellopsis sp.* Este estudio permitirá establecer las condiciones de cultivo de biomasa de microalgas para obtener un mayor contenido de carotenoides y evaluar el diseño de un proceso sostenible y económicamente viable en agua dulce y posteriormente adaptar el cultivo de ésta cepa en agua de mar.

Fondef ID14110110

**CLP3-63****Adaptación de *Muriellopsis sp.* al cultivo con agua de mar sobre su potencial actividad antioxidante y acumulación de luteína**

**Díaz, D<sup>1</sup>**, Cruz V<sup>1</sup>, Infante C<sup>1</sup>, Marticorena P<sup>1</sup>, Bazaes J<sup>1</sup>, Riquelme C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

La luteína, un miembro del grupo de carotenoides, es utilizado ampliamente como aditivo para entregar sabor y color a los alimentos. Además de ser un potente antioxidante, se ha demostrado que presenta beneficios para la salud humana en la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, cáncer y degeneración macular relacionada con la edad. En nuestro estudio, se analizó la microalga *Muriellopsis sp.*, caracterizada por poseer un alto contenido de luteína y tenerla ventaja distintiva de estar adaptada en cultivo de agua de mar. En primer lugar, se analizó en que estadio de crecimiento del cultivo ésta posee una mayor capacidad antioxidante. Para llevar a cabo esto, se realizó la extracción de carotenoides totales mediante solventes orgánicos, los cuales fueron cuantificados y comparados con los métodos ORAC, DPPH y FRAP. Además, se realizó un análisis de pigmentos por HPLC con los extractos de cada estadio de cultivo microalgal de nuestro interés con el fin de caracterizar los carotenoides presentes. Finalmente, con los datos obtenidos para luteína, se llevó a cabo un estudio de acumulación y cinética de crecimiento de este carotenoide. En general, este estudio contribuye a convertir la producción de biomasa de *Muriellopsis sp.* rica en luteína y adaptada en agua de mar para su utilización como pigmento de origen biológico en un proceso más sostenible y económicamente viable. Fondef ID14110110

**CLP3-64****Caso clínico: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en una infección ocular adquirida en la comunidad**

**Aguila P<sup>1</sup>**, Bermudez R<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Tecnología Médica, Sede Puerto Montt, Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Escuela de Medicina, Sede Patagonia, Universidad San Sebastián.

*Staphylococcus aureus* es un patógeno que presenta múltiples resistencias antibióticas. Las especies con resistencia a meticilina le confieren gran virulencia a *S. aureus*. La conjuntivitis es una infección microbiana de la membrana mucosa de la conjuntiva del ojo. Se observa una tendencia mundial en el aumento de la prevalencia de infecciones oculares por SARM en conjuntivitis, llegando a provocar perforaciones corneales, celulitis y endoftalmitis. Se le recolectó un hisopado ocular a un paciente de 73 años que acudió al servicio de Oftalmología del Hospital Regional de Valdivia, previa autorización de un consentimiento informado. Las tómulas se sembraron en placas de agar sangre a 37°C y se incubaron por 48 h. Se realizó un análisis fenotípico (tinción de Gram, coagulasa, tests bioquímicos y microscopía electrónica de Barrido). Para confirmar la identidad del aislamiento se amplificó y secuenció parcialmente el gen rRNA 16S. Las pruebas de sensibilidad bacteriana se llevaron a cabo mediante el antibiograma según los estándares de CLSI. Los antimicrobianos utilizados fueron oxacilina, gentamicina, vancomicina, ampicilina, eritromicina, cloranfenicol y ceftazidima. La morfología de las colonias de la cepa en estudio (M8) se observaron brillantes, lisas, elevadas, de bordes enteros, y negras típicas de especies de *Staphylococcus*. En el Antibiograma se observó resistencia intermedia hacia oxacilina. Con microscopía electrónica se observó la forma cocoidal de las células. La amplificación por PCR del gen rRNA 16S de la cepa en estudio correspondió a *S. aureus*. El Árbol filogenético mostró estrechas relaciones filogenéticas con SARM. Se aisló, identificó y caracterizó fenotípica y molecularmente una bacteria desde un paciente comunitario con conjuntivitis que asistió al Hospital Regional de Valdivia que correspondió a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.

Vicerrectoría Universidad Austral Sede Puerto Montt, Escuela de Tecnología Médica, Universidad Austral, Sede Puerto Montt.



**CLP3-65****Estudios iniciales de mecanismos de protección al stress por parte de la levadura *Brettanomyces bruxellensis*. (Initial studies of protection mechanisms to stress by *Brettanomyces bruxellensis*)**

García F<sup>2</sup>, Mardones W<sup>2</sup>, Godoy L<sup>1</sup>, Ganga M A<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada, Facultad Tecnológica, Universidad De Santiago De Chile.<sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada, Facultad Tecnológica, Universidad De Santiago De Chile y Millennium Nucleus for Fungal Integrative and Synthetic Biology. (Sponsored by Maria Angelica Ganga)

La levadura *B. bruxellensis* es la principal causa de las alteraciones microbiológicas que actualmente afectan la calidad del vino. Este microorganismo es capaz de crecer en condiciones desfavorables, por ende se propone que posee mecanismos potentes de resistencia a estrés. El objetivo de este trabajo es evaluar el crecimiento de *B. bruxellensis* en condiciones de estrés lumínico, y determinar si esto la prepara para resistir otro tipo de estrés, como por ejemplo etanol. Inicialmente logramos determinar que existen diferencias en los patrones de crecimiento entre las dos cepas utilizadas, L2480 y L1359, bajo condiciones no estresantes. Además observamos que el tratamiento de las cepas con ciclos de 12 horas luz (3600 lux) y oscuridad muestra que ambas ven afectadas su crecimiento, probablemente mediante un estrés oxidativo. Posteriormente las cepas tratadas con luz fueron transferidas a un medio que contiene etanol como fuente de carbono, observándose que estas tienen una mayor tasa de crecimiento. Adicionalmente, análisis transcriptómicos comparados con bases de datos genómicas, permitieron identificar genes que probablemente están relacionados con la respuesta a este tipo de estreses. Dentro de estos se encuentran factores de transcripción como Mns2, Mns4, Yap1 y Skn7. Además de enzimas detoxificantes como Trx2, Ttr1, Sod1, Gpx2, Gsh1 y Ctt1. Este es el primer estudio que demuestra que existe una conexión entre la respuesta al daño oxidativo generado por la luz y el daño estructural generado por etanol. Actualmente se está evaluando la expresión de estos genes bajo los distintos tipos de estrés utilizados en este trabajo

Millennium Nucleus for Fungal Integrative and Synthetic Biology (NC 120043) y Beca Postdoctoral – Universidad de Santiago

**CLP3-66****Efecto en la calidad nutricional y bienestar animal de tilapias (*Oreochromis sp*) suplementadas con probióticos**

**Betancur González<sup>1</sup>, E.M,** Gutiérrez<sup>2</sup> L.A., David Ruales<sup>3</sup> C.A. <sup>1</sup>Estudiante de Maestría en Gestión de la Calidad de los Alimentos CUL. 2,3. Docente Corporación Universitaria Lasallista

**Introducción:** Con la creciente intensificación y comercialización de la producción acuícola aparecen enfermedades e infecciones que se convierten en un problema para el cultivo de muchas especies acuáticas entre ellas la tilapia, la forma de control ha sido los antibióticos, sin embargo su uso continuado ha generado cepas antibiótico multirresistentes; una forma de contrarrestar este efecto es mediante el empleo de cepas probióticas, las cuales generan múltiples beneficios sobre el bienestar animal y la calidad nutricional. **Objetivo:** en esta investigación se buscó evaluar la calidad nutricional y el bienestar animal en tilapias alimentadas con concentrado mas probiótico y sin probiótico. **Metodología:** Se realizó una dieta con y sin probióticos, ambas con 42% de proteína bruta con 95% de digestibilidad y Energía 4765.8 Kcal/Kg, a la de probióticos se le incluyó el 1%, los experimentos se realizaron en la estación experimental de la Corporación Universitaria Lasallista, 631 alevinos se dividieron en cuatro tanques, dos con probióticos y dos sin probióticos, el ensayo duró cinco meses y al final del experimento se evaluaron niveles de Cortisol y Glucosa, y se realizaron análisis bromatológicos y de ácidos grasos como DHA, grasa saturada, insaturada, monoinsaturada, poliinsaturada, grasas Cis, grasas Trans y omegas 3, 6 y 9. **Resultados:** Se encontró diferencias estadísticamente significativas  $p < 0,05$  en todos los análisis realizados, tanto en las pruebas bioquímicas como en las bromatológicas y de ácidos grasos en los peces suplementados con probióticos con respecto a los no suplementados. **Conclusión:** se evidenció que en los animales alimentados con probióticos los niveles de cortisol y glucosa fueron mucho más bajos que en los animales no suplementados, de igual manera este lote obtuvo niveles mas altos de ácidos grasos evidenciado un mejoramiento en la calidad de la carne lo que se vera reflejado en la salud del consumidor. Palabras clave: Probióticos, tilapia, calidad, bienestar

**CLP3-67****Título: Estimación de la carga parasitaria en la infección *in vitro* de macrófagos con *Leishmania spp* mediante la amplificación del gen miniexón por PCR en tiempo real****Estimation of the parasite burden in infected macrophages with *Leishmania spp* by miniexon amplification using real time PCR**

**Muñoz C.F**, Londoño-Barbosa D, Ovalle-Bracho C.

Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta, Avenida 1ª # 13A-61, Bogotá D.C., Colombia.

La carga parasitaria es un parámetro indispensable para evaluar la dinámica de la infección *in vitro* de células hospederas de *Leishmania* y necesario para realizar estudios de susceptibilidad de medicamentos. Usualmente ésta se determina por conteo en el microscopio, lo cual demanda tiempo y depende de la experticia del observador. Con el objetivo de contar con un método alternativo para la cuantificación de la carga parasitaria *in vitro*, se estandarizó la amplificación del gen miniexón, que es específico de la familia Trypanosomatidae, por PCR en tiempo real (qPCR) a partir de ADN de macrófagos derivados de U937 infectados por *Leishmania spp*. La qPCR se realizó en el termociclador CFX96 (Bio-Rad), en el cual se amplificó un fragmento de 226 pb del gen miniexón usando 500 nM de *primers*, reportados por Marfurt, y la mezcla SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad). La sensibilidad analítica de la prueba se evaluó mediante la amplificación de miniexón a partir de diferentes concentraciones de ADN de parásitos (100 ng - 1 fg). Se consideró como resultado positivo la amplificación del gen en un Cq menor a 35. El número constante de macrófagos en cada experimento se verificó mediante la amplificación del gen de referencia:  $\beta 2M$ . Se infectaron macrófagos derivados de células U937 con diferentes proporciones de parásitos de *Leishmania* y se realizó extracción de ADN y amplificación del gen miniexón. La qPCR presentó un límite de detección de 100 fg de ADN de parásitos, con 98% de eficiencia en la amplificación y  $R^2$  de 0.995. La metodología permitió diferenciar cargas parasitarias desde 0,5 a 30 parásitos por macrófago. La amplificación del gen miniexón por qPCR es una alternativa rápida y menos subjetiva que el método manual para la cuantificación de parásitos de *Leishmania spp* y la estimación de la carga parasitaria *in vitro*.

**Fuentes de financiamiento:** Este trabajo fue financiado por el Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta a través del proyecto 4000.16.1U.

**CLP3-68****Reducción del fenotipo de infección en macrófagos U937 con *Leishmania (Viannia) braziliensis* como efecto del silenciamiento de *MMP3*****Decreasing of the infection phenotype of U937 derived macrophages with *Leishmania (Viannia) braziliensis* caused by *MMP3* gene silencing****Londoño-Barbosa D A<sup>1</sup>**, Muñoz C F<sup>1</sup>, Clavijo-Ramírez C<sup>2</sup>, Ovalle-Bracho C<sup>1</sup><sup>1</sup>Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta, Avenida 1ª # 13A-61, Bogotá D.C., Colombia.<sup>2</sup>Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 45 # 26-85, Bogotá D.C., Colombia.

El conocimiento de los mecanismos moleculares que emplea *Leishmania* para modular la expresión génica del macrófago en la infección puede contribuir al desarrollo de alternativas terapéuticas para la leishmaniasis mediante la identificación de genes relevantes en el proceso de infección. El gen *MMP3* codifica para la metaloproteinasa de matriz extracelular 3 y está asociado con la regulación de la respuesta inflamatoria por su capacidad de inducir otras metaloproteasas y quimiocinas. Por ensayos de microarreglos, este gen se encontró diferencialmente expresado entre macrófagos derivados de células U937 infectados con *L. (V.) braziliensis* y macrófagos no infectados. El objetivo de este trabajo fue determinar si el silenciamiento de *MMP3* tiene algún efecto sobre el fenotipo de infección de macrófagos. Se transdujeron células U937 con vectores lentivirales que codifican para la expresión de 4 shRNAs diferentes dirigidos contra *MMP3* (*M1*, *M2*, *M3* y *M4*) y un shRNA *scrambled* como control. El silenciamiento de *MMP3* se evaluó por *western blot* y el cambio en el fenotipo de infección se determinó calculando el porcentaje de infección y la carga parasitaria. Dado que las líneas celulares portando los shRNAs *M1* y *M2* tuvieron el mayor porcentaje de silenciamiento (90%), éstas se seleccionaron para evaluar el fenotipo de infección. Como resultado se obtuvo que las líneas celulares silenciadas tenían porcentaje de infección y carga parasitaria inferior a la línea celular U937 no transducida. Las líneas transducidas con el shRNA *scrambled* presentaron un fenotipo de infección similar al de las U937 no modificadas. Estos resultados sugieren que el silenciamiento del gen *MMP3* podría ser específico dado que el bajo fenotipo de infección obtenido fue reproducible en líneas celulares transducidas con diferentes secuencias de shRNAs. Se concluye que *MMP3* favorece el proceso normal de infección del modelo U937 por parte de *L. (V.) braziliensis*.

**Fuentes de financiamiento:** Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta – E.S.E., en el marco del proyecto 4000.16.1R.

**CLP3-69****Caracterización de la función de *dlk-1* en la regeneración neuronal inducida por la entrada de diapausa.**Sebastián Urquiza<sup>1</sup>, Mauricio Caneo<sup>1</sup>, Andrea Calixto<sup>1</sup><sup>1</sup>Centro de Genómica y bioinformática, Biotecnología, Universidad Mayor

La diapausa es un tipo de *Caenorhabditis elegans*. En condiciones favorables de comida y temperaturas estable, *C. elegans* puede vivir por 15 días y desarrollarse en un ciclo de dura tres días desde la embriogénesis hasta la adultez, en cambio cuando hay falta de alimento, sobrepoblación o altas temperaturas, el gusano entra en diapausa formando una larva llamada dauer, que es morfológica y bioquímicamente distinguible (Cassada and Russel., 1973). Trabajos previos en nuestro laboratorio demostraron que durante la diapausa las neuronas que están condenadas a morir, por la expresión constitutiva de una degenerina, a) se protegen de la neurodegeneración (Calixto et al., 2012) y b) son capaces de regenerarse (Caneo et al., unpublished results). La diapausa representa un ambiente propicio para que los procesos regenerativos estén máximamente potenciados (Calixto., 2015). Uno de los mecanismos protectores propuestos es la expresión elevada de *dlk-1* durante la diapausa (Calixto., 2015), que ha sido descrita como clave para la regeneración en otros modelos de daño como la axotomía y la inestabilidad axonal por expresión de la  $\beta$ -espectrina (Hammerlund et al., 2003). El incremento del calcio intracelular causa la activación de *dlk-1*, que se une a los microtubulos promoviendo la polimerización para el consecuente crecimiento del axón. Nuestros resultados demuestran que la regeneración observada en la diapausa, es durante las primeras horas *dlk-1* independiente, pero durante la segunda y más larga fase, *dlk-1* es imprescindible (Caneo et al., unpublished). En este trabajo nos hicimos las siguientes preguntas: ¿Cómo es la expresión de *dlk-1* durante la diapausa?, ¿Qué consecuencia fenotípica acarrea la pérdida de *dlk-1* en animales silvestres y en mutantes que neurodegeneran?, ¿Cuándo ocurre el colapso de un axón cuando no ha sido regenerado en el mutante de *dlk-1*?, ¿Cuánta energía usa la larva dauer para regenerar el axón dañado? Para responder estas preguntas haremos lo siguiente: 1. Clonamiento de *dlk-1* bajo un promotor específico de las neuronas del tacto (*mec-18*) y fusionado a GFP para la observación de su expresión y posterior cuantificación, Para hacer la caracterización funcional de la relevancia de *dlk-1* en el desarrollo normal y en la regeneración de axones dañados, usaremos el doble mutante *dlk-1, mec-4d* y se hará una curva temporal para visualizar la morfología de las neuronas wild type y degeneradas.

# ÍNDICE

## A

Aballay E 220  
 Abello-Barriga R 81  
 Acuña M 209  
 Acuña-Hinrichsen F 70, 82  
 Adriasola A 236  
 Aguayo D 189  
 Aguayo F 108, 186  
 Aguayo V. D 86  
 Águila P 83, 282  
 Aguilar L 238  
 Aguilar P 41  
 Aguilera P 55  
 Aguilera X 167  
 Aguirre A 84  
 Aguirre C 75, 114  
 Aguirre Huamani M 138  
 Álamos P 92  
 Alarcón M 189  
 Alarcón T. M 86  
 Alarcón-Schumacher T 85  
 Albornoz R 107, 237  
 Alcaíno J 89, 98, 120, 133, 143, 149, 250, 275  
 Alcaman M E 74, 87  
 Alcorta J 87  
 Allard M 52  
 Allende M 55, 199  
 Almonacid L 88, 279  
 Altamirano M J 60  
 Alvarado R 244  
 Álvarez E 12, 90  
 Álvarez R 146  
 Álvarez S 68, 91, 239  
 Álvarez S A 129, 140, 241, 263  
 Álvarez-Lobos M 60, 125, 203, 243  
 Alvaro S 248  
 Amaya F 91, 129  
 Ameer M 28  
 Ampuero S 93, 167  
 Ananias C 94  
 Andrade C 276  
 André M 227  
 Andrea C 262  
 Andres C 152  
 Anguita C 166

Angulo J 102, 135  
 Antivero P 160, 231, 258  
 Arán P 41, 188  
 Arancibia Y 174  
 Arancibia-Díaz A 181  
 Aranda M 165  
 Aranda B. M 100  
 Aravena Zarate R M 234  
 Araya G 95  
 Araya X 116  
 Arenas F 113  
 Arias L 184  
 Armijo R 236  
 Aroca G 84  
 Arriagada G 21  
 Arriagada V 54, 134, 254  
 Astudillo M 96  
 Astuya A 252, 255  
 Avalos F 48, 97, 170, 257  
 Avalos V 41  
 Ávalos Ovando V 180  
 Avendaño L F 169  
 Avendaño-Herrera R 78, 107  
 Avilés F 107  
 Ayers S 52

## B

Baeza M 89, 98, 120, 133, 143, 149, 250, 275  
 Banks P 5  
 Baquedano S 75  
 Barahona S 98, 149, 275  
 Barbosa O 246  
 Brito B 99  
 Barrera A 88, 135, 279  
 Barreto M 52, 236  
 Barria M 16  
 Barrientos C 256  
 Barriga G 99  
 Bastias R 145, 253  
 Bazaes J 280, 281  
 Becerra J 192, 252, 255  
 Bellenberg S 79  
 Bello H 215, 219  
 Bello-Toledo H 247



Belmar L 166  
 Benadof D 169  
 Benavides H. H 100  
 Bermudez R 83, 282  
 Bernaldo Agüero J 138  
 Berríos-Pastén C 69, 77  
 Bignon E 19  
 Blanco J 66  
 Blondel C 30  
 Blondin B 6  
 Borges L 227  
 Bravo D 140  
 Brice C 101  
 Briones A 75, 114  
 Brown E 52  
 Bueno S 60, 125, 151, 203, 243  
 Burgos P 82, 240  
 Bustos E 192

## C

Cabezas C 75, 114  
 Cabrera R 260, 261  
 Cáceres C J 102  
 Cáceres J 260  
 Cáceres M 84  
 Cachicas V 103  
 Cádiz L 104, 217  
 Cajas D 255  
 Calixto A 73, 106  
 Cámara B 274  
 Cambiazo V 199  
 Camilli A 56, 57  
 Campos J L 268  
 Campos M 227  
 Cañadas F 236  
 Canales N 54, 134  
 Canales V 63, 105  
 Caneo M 106  
 Cardona D 236  
 Caris C 262  
 Carlos M 248  
 Caroca J 70, 82, 174  
 Carreño S 214  
 Carril G 107  
 Carrillo D 108, 186  
 Cartagena J 109  
 Cartes C 110, 162, 213  
 Caruffo M 269  
 Carvajal F 236  
 Castillo E 150  
 Castillo F 158  
 Castillo L 171, 191, 196, 211, 232, 259  
 Castro D 110  
 Castro F 160  
 Castro M 111, 112, 113  
 Castro G. M 82  
 Castro-Nallar E 75, 114  
 Castro-Severyn J 75, 114  
 Catalán P 277  
 Cayo A 70  
 Corahua Santo R 138  
 Celis R 118, 176  
 Céspedes S 115  
 Chamond N 28  
 Charles-Orszag A 31  
 Chávez D 116, 117, 222  
 Chávez F 32  
 Chávez F P , 55, 199, 267  
 Chávez R 72, 119, 142, 264  
 Cid H 117, 222  
 Cid N 219  
 Cifuentes E 118, 176  
 Cifuentes V 89, 98, 120, 133, 143, 149, 250, 275  
 Cinti A 27  
 Concha M 174  
 Concha M I 201  
 Contreras F 158  
 Contreras N 102, 150  
 Cordero N 216  
 Córdova C 226  
 Córdova P 120, 250  
 Coronado I 203  
 Coronado-Arrázola I 151  
 Correa F 154  
 Correa S 189  
 Correa M. S 86  
 Corsini G 197, 205, 242  
 Cortes A 121, 164  
 Cortes I 118, 176  
 Cortés L J 278  
 Cortes M 237  
 Cortez D N 122  
 Cortez-San Martín M 94  
 Cristian G 247  
 Cristian S 152  
 Cruz V 281



Cruz-Balladares V 280  
Cubillos F 38, 62

## D

Daneri G 25  
Daniela D 281  
Davis B 30  
De Breyne S 28  
De La Cruz Calvo F 138  
De Lima C 144  
Deforges J 28  
Del Canto F 104, 115, 217, 220  
Dellarossa A 123  
Dellarossa A O, 207, 229  
Díaz D 280  
Díaz F 146  
Díaz N 124  
Díaz-Garrido N 53  
Diego P 248  
Diez B 74, 76, 85, 87  
Doench J 30  
Domínguez M 219  
Donoso F 93  
Donoso P 71  
Dorador C 41, 161, 172, 188, 218  
Dorador Ortíz C 180  
Dreyse J 135  
Dumenil G 4, 31  
Dusan B 99

## E

Eca Avila A 138  
Echeverría C 124  
Eissler Y 254  
Elgamal S 61  
Escalona A 177  
Escrig D 276  
Espejo R 210  
Espínola J 153  
Espinoza J 125  
Espinoza S 87  
Espinoza-Monje M 126  
Espoz C 99  
Estay R 127, 270

## F

Farfán M J 65  
Farías L 74  
Fariña A 55  
Feistel J 227  
Fernández C 39, 166  
Fernández F 10  
Fernández G 128  
Fernández P 91, 129, 140  
Fernández-Ramírez R 130  
Fernández-Sesma A 17  
Fernández-Soto R 130  
Ferrer A 80  
Ferres M 88, 135  
Figueroa A 216  
Figueroa G 67, 183, 190, 216, 261  
Figueroa J 45, 66, 81, 107, 110, 162, 213, 273  
Flores-Herrera P 278  
Fortt J 114  
Franco C 152  
Fredericksen F 54  
Fuentes L 265  
Fuentes Y 276  
Fuentes Quispe A 138

## G

Gabaldon C 73  
Gaggero A 147  
Gallardo P 65, 160  
Gallardo-Benavente C 131  
Gallardo-Escárate C 247  
Ganga M 132  
Ganga M A 283  
Gárate C 133  
Garcés P 54, 134  
García A 126  
García C 139  
García F 283  
García K 210  
García T 135  
García V 136  
García Cancino A 179  
García-De F O, 137  
García-De R 138  
García-Rico R O 72, 142  
García-Sastre A 88

Garcias H 129  
 Garcias-Papayani H 140  
 Garrido A 165  
 Garrido C 265  
 Garrido D 141, 177  
 Garrido J 16  
 Gentina J C 84  
 Gerding M 226  
 Gewurz B 30  
 Giacaman R 53, 124  
 Gil F 146  
 Gil-Durán C 72, 119, 142, 264  
 Godoy L 132, 283  
 Godoy M 209  
 Godoy T 153  
 Godoy Rojas F 274  
 Godoy-Martínez P 277  
 Goldman G 35  
 Gómez F 107, 278  
 Gómez F A 244  
 Gómez M 143  
 Gómez R S 243  
 González A M 89  
 González D 48, 92, 145  
 González G 215  
 González M 214  
 González P 157  
 González P A 243  
 González Correa C 179  
 González Machuca P 181  
 González-Escalona N 52  
 González-Muñoz P 144  
 González-Rocha G 144, 219, 247  
 Gothe M J 123  
 Guajardo-Leiva S 76, 85  
 Guardado-Calvo P 19  
 Guerra Bieberach G 138  
 Guerrero F 158  
 Guevara F 136  
 Guiliani N 112  
 Guillamón J M 175  
 Guldimann C 215  
 Gutiérrez A 197, 205  
 Gutiérrez D 115, 220  
 Gutiérrez M 144  
 Gutiérrez M H 25  
 Gutiérrez M S 98  
 Gutiérrez O 232  
 Gutiérrez S 136

## H

Halpin R 88  
 Hamilton-West C 258  
 Haro R 245  
 Haussmann D 66, 81, 107, 110, 162, 213, 273  
 Hengst M 41, 161, 172, 180, 218  
 Henríquez K 165  
 Henríquez M 264  
 Henríquez T 242  
 Henríquez A. K 100  
 Hermosilla G 139  
 Hernández D 104  
 Hernández F 168  
 Hernández L 148  
 Hernández S 228  
 Hernández T 96  
 Herrera Y 269  
 Hervé L P 258  
 Hidalgo A 63, 105, 155, 159, 182, 208  
 Hidalgo C 154  
 Hidalgo M 155  
 Higuera S 156  
 Higuera-Llanten S 194, 271  
 Hoffmann A 18  
 Hubbard T 30  
 Huerta H 108

## I

Ibáñez F 157  
 Ibbá M 61  
 Imarai M 276  
 Infante C 158, 280, 281  
 Inostroza A 86, 189  
 Inostroza N 228  
 Inostroza O 146  
 Isla A 66, 273  
 Iturra P 233  
 Izquierdo M 65

## J

Jacqueline F 121  
 Jaque J 96  
 Jara D 219  
 Jara J A 130

Jara M 103  
 Jeffrey W H 218  
 Jerez C A 122, 223, 260  
 Jerez S 159  
 Jiménez M F 160, 231, 258  
 Jiménez M 154  
 Jorquera M 228  
 Juan K 254  
 Juan Carlos E 254

## K

Kahne S 57  
 Kalergis A 60, 125, 157, 203  
 Kalergis A M 243  
 Katz A 47,61, 128, 235  
 Kessi-Pérez E I 175  
 Kreth J 53  
 Kuehl C 30  
 Kurte L 161, 218  
 Kurzchalia T 106

## L

Labra Á 107  
 Labra B 68, 239, 263, 267  
 Lagos F 66, 81,107,110, 162, 273  
 Lagos R 69, 77, 95, 173, 224  
 Lagües Y 171, 196  
 Lamaro-Cardoso J 227  
 Larenas C 209  
 Larenas J 209  
 Larrañaga C 167  
 Lavin P 41, 42, 163  
 Lazinski D 56, 57  
 Le Corre N 135  
 Leal G 108, 186  
 Lefimil C 121, 164, 168  
 Léger P 18  
 Legras J 37  
 Legue M 73  
 Leiva L 61  
 Leiva S 46  
 León M 145  
 León O 108, 147  
 Lerma-Cabrera J M 236  
 Letelier L 265

Levicán G 80, 225, 230  
 Levican J 147  
 Levipan H A 78, 166  
 Levy S 56  
 Leyton L 70, 82, 174, 201, 240  
 Limia C 186  
 Lizama L 167  
 Lobos P 224  
 López B 255  
 López J 132  
 López-Lastra M 14, 102,135, 150, 193  
 Lorca G 112  
 Lowy F 150  
 Lozach P 18  
 Lozano C 53,121, 164, 168  
 Luchsinger V 167, 169

## M

Machuca A 116, 117, 222, 226  
 Madariaga Venegas F 130  
 Madrid H 11  
 Maldonado J 48  
 Maldonado J P 97, 170, 257  
 Maldonado N 54, 134  
 Mangeot P 29  
 Manríquez J 103  
 Mansilla J 104, 217  
 Marambio B 171, 196  
 Marchandon G 74, 178  
 Marchant F 172  
 Marcoleta A 77, 173  
 Marcoleta A E 55, 69, 224  
 Mardones G 201  
 Mardones W 283  
 Marín J 173  
 Marshall S 64, 107, 195, 221, 244, 278  
 Marshall-González S 156, 204, 271  
 Marticorena P 280, 281  
 Martin A J 73  
 Martin C 174, 201  
 Martínez C 62, 175  
 Martínez M 103, 255  
 Marvasi M 242  
 Matallana-Surget S 218  
 Maza F 67, 214  
 Mazelier M 18  
 McClelland M 68

Medina C 118, 176  
 Medina D A 141, 177  
 Medina E 142  
 Medina R 24, 88, 135, 279,  
 Medina R A 99  
 Mehnert M 225  
 Melis F 111, 178, 272  
 Mella C 70  
 Melo F 88  
 Méndez A 233  
 Merino J 179  
 Michael S 152, 198, 266, 274  
 Mick P 265  
 Millanao A 63  
 Miranda C 147  
 Miranda N 41  
 Miranda González N 180  
 Miura T 43, 246  
 Molina A M 181  
 Molina V 41, 161, 166, 180, 218  
 Molina Trincado V A 234  
 Molina-Berríos A 130  
 Molina-Quiroz R 56  
 Molinet J 62  
 Monasterio O 77, 95, 173, 224  
 Montoya-Kunsting M 94  
 Mora A 182  
 Mora G 63, 105, 159, 182  
 Morais M 227  
 Moraleda C 209  
 Morales I 121, 164, 168  
 Morales P 183  
 Morales-Reyes J 256  
 Morales-Rivera M F 219  
 Moreira S 48  
 Moreira-Ramos S 184  
 Moreno C 169  
 Moreno Switt A 215, 258  
 Morgado C 267  
 Mormontoy Quicaña C 138  
 Muena Castillo N 185  
 Muñoz C 113, 265  
 Muñoz F 187  
 Muñoz J P 108, 186  
 Muñoz P 41, 188  
 Muñoz-Durango N 243  
 Myriam G 152

## N

Naranjo X 118, 176  
 Navarrete P 269  
 Navarro B 189  
 Navarro P. B 86  
 Navea-Perez H 190  
 Neaman A 71  
 Neira V 99  
 Nespolo R 45  
 Neu T R 79  
 Nicolas V 182  
 Nocker A 238  
 Noguera L 203  
 Notte A 191  
 Núñez A 167  
 Núñez F 167  
 Núñez G 77  
 Núñez M 135  
 Núñez P 244

## O

Obreque M 192, 238  
 Obreque O 252  
 Oetiker N 223  
 Ohlmann T 28  
 Ojeda R 167  
 Olavarría V 54  
 Olavarría V H 134  
 Olguín V 193  
 Olivares E 102, 193  
 Olivares J 64, 194, 195, 221  
 Olivares L 171, 196  
 Olivares N 118, 176  
 Olivares-Pacheco J 156, 204, 271  
 Oliver C 237, 245  
 Opazo-Capurro A 144  
 Orellana O 48, 92, 97, 128, 170, 184, 257  
 Orellana P 197, 205, 242  
 Orellana R 198, 266  
 Ortiz M 200  
 Ortiz-Serverín J 32, 55, 199  
 Otth C 54, 70, 174, 201, 240  
 Otth L. C 82  
 Ovalle A 141  
 Oyarzúa P 226  
 O'Ryan M 65

## P

Pacheco A 30  
 Paduro C 60  
 Paez J 132  
 Pagliai F 112  
 Palavecino C 203  
 Paleo R 45  
 Palza H 253  
 Pantoja S 25  
 Parada J 202  
 Pardo-Esté C 75, 114  
 Pardo-Roa C 60, 151, 203, 243  
 Paredes R 154  
 Paredes-Sabja D 146  
 Paredes E 103  
 Park J 30  
 Parker S 204  
 Parra A 190  
 Parra D 117, 222  
 Pastene Navarrete E 179  
 Patricio C 152  
 Pavlov M S 195, 221  
 Pavón A 197, 205  
 Pedreros J P 177  
 Peña F 210  
 Peña Florin H S D 234  
 Peñaloza H F 243  
 Pereira C 229  
 Pereira-Montecinos C 137, 207  
 Pérez C 192, 252  
 Pérez D 210  
 Pérez F 208  
 Pérez M 209  
 Pérez V 158, 161, 218  
 Pérez-Acle T 73  
 Pérez-Donoso J M 131  
 Perez-Stuardo D 256  
 Pimentel F 177  
 Pincheira A 61  
 Pino K 102  
 Pinto F 141  
 Pizarro D 60  
 Pizarro D P 243  
 Pizarro R 169  
 Pizarro-Torres C 181  
 Plaza N 210  
 Plaza V 171, 196, 211

Poblete I 51  
 Poblete N 212  
 Ponce C 233  
 Ponce R 127, 200, 270  
 Ponty Y 28  
 Porwollik S 68  
 Prades Y 169  
 Prescott J 15  
 Puente C 213  
 Puentes C 107

## Q

Quatrini R 112  
 Quesille-Villalobos A M 214  
 Quezada N 177  
 Quintero-Galvis J 45  
 Quiroz Cortez A 131

## R

Rain-Franco A 166  
 Ramírez A 93  
 Ramírez S 210  
 Ramírez Apablaza A 181  
 Ramírez Roca P 138  
 Rathnasinghe R 135, 279  
 Ravanal M C 119  
 Realini O 262  
 Recalde A 223  
 Reid R 224  
 Reinoso C 113  
 Remonsellez F 114  
 Retamal G 225  
 Retamal P 52, 148  
 Retamales J 244  
 Rey F 19  
 Reyes M 226  
 Reyes-Cerpa S 256  
 Reyes-Jara A 67, 190, 214, 261  
 Ribeiro M 227  
 Ricardo V 198  
 Riedel C 203  
 Riedel C 60  
 Riedel C A 243  
 Rilling J 228  
 Riquelme C 158, 280, 281

Riquelme S 55, 68, 229  
 Rivera D 160, 231, 258  
 Rivera-Araya J 230  
 Roberto O 152  
 Roco B 232  
 Rodríguez M 208  
 Rojas C 71  
 Rojas D A 233  
 Rojas J 132, 235  
 Rojas Sánchez M H 234  
 Rojas-Aedo J F 72, 142  
 Rojas-Araya B O, 137  
 Rojas-Fuentes C 137  
 Romero I 175  
 Roselló-Mora R 65, 87  
 Rubilar O 202  
 Ruiz L 236  
 Ruiz M 169  
 Ruiz P 237  
 Ruiz-Tagle N 192, 238, 252

## S

Saadi A 28  
 Saavedra C P 75, 114  
 Sabag A 55, 68, 239, 263, 267  
 Saitz W 115  
 Salamin M 240  
 Salas B 263  
 Salas B E 241  
 Salas C 259  
 Salazar C 64, 236  
 Salazar F J 243  
 Salazar G 60, 203, 151  
 Salazar G A 243  
 Salazar J 242  
 Salazar J C 139  
 Salazar L 197, 205  
 Salazar P 70, 82, 174, 240  
 Salazar Quiroz N 185  
 Salazar-Echegarai F 60, 125, 151, 203  
 Saldías J 147, 244  
 Salinas C 114  
 Salinas P 96  
 Sallaberry M 99  
 Sallaberry N 99  
 Saluzzo J 261  
 San Martín R 84

Sánchez C 22  
 Sánchez P 245  
 Sánchez R 246  
 Sánchez Rojas T 138  
 Sánchez Venegas J 138  
 Sánchez-Sanhueza G 247  
 Sandino A M 109, 256, 276  
 Sanfuentes E 252  
 Sanhueza C 90  
 Sanhueza G 103  
 Santander E 96  
 Santibáñez P 40  
 Santiviago C 68, 91, 239  
 Santiviago C A 55, 129, 140, 241, 263, 267  
 Santos C 13  
 Sargueil b 28  
 Sauer A 252  
 Sayes J 158  
 Schlömann M 225  
 Schmitt P 278  
 Schultz B 60  
 Schultz B M 243  
 Schwabe R 225  
 Sepúlveda C 103  
 Sepúlveda D 89, 143, 250  
 Sepúlveda F 249  
 Severino E 41, 188  
 Shah A 242  
 Sielfeld w 96  
 Silva A 103  
 Silva C A 129  
 Silva C 167  
 Silva D 93, 167  
 Silva-Aciares F 158  
 Silva-Valenzuela C A 57  
 Socias G 149  
 Solano J 45  
 Sossa K 192, 238, 252  
 Soto C 103  
 Soto M J 253  
 Soto N 132  
 Soto S 164  
 Soto-Herrera V 256  
 Soto-Rifo R O, 50, 123, 137, 207, 212, 229  
 Spencer E 109  
 Stepke C 134  
 Stoores C 154  
 Strahsburger E 127, 153, 200, 270  
 Strull K 154



Stuardo C J 199

## T

Tamames J 76  
 Tambley C 109  
 Tapia C 255  
 Tapia D 254  
 Tapia J 108  
 Tapia K 88, 135, 279  
 Tapia K A 99  
 Tapia S 256  
 Tejías C 146  
 Tello M 48,49,97,170, 248,257, 265  
 Thompson A 20  
 Thompson D 36  
 Tischler D 225  
 Tischler N 19, 185  
 Toledo A 167  
 Toledo V 215  
 Toledo-Alonso J 94  
 Toro C S 139, 242  
 Toro M 52, 160, 231, 258  
 Toro-Ascuy D O, 94, 207  
 Torrent-Farías C 142  
 Torres A 104, 217  
 Torres C 167  
 Torres D 132  
 Torres E 169  
 Torres F 99  
 Torres J 60  
 Torres M J 259  
 Torres P 254  
 Torres-Paris C 260  
 Tortella G 202  
 Troncoso M 183, 216, 261  
 Turiel D 177

## U

Ugalde J 111, 178  
 Ugalde J A 23, 249, 272  
 Ulloa M T 139  
 Ulryck N 28  
 Urrutia A 262  
 Urrutia H 192, 238, 252  
 Urrutia I 68, 239, 267

Urrutia Í M 241, 263  
 Urtiz N 132  
 Urzúa B 121, 130, 164, 168  
 Urzúa U 108

## V

Vaca I 72, 119, 142, 264  
 Valdés N 49, 265  
 Valdés R 104, 217  
 Valencia R 266  
 Valenzuela C 55, 68, 239, 263, 267  
 Valenzuela M J 269  
 Valenzuela S L 114  
 Valenzuela X 44  
 Valenzuela-Heredia D 268  
 Valiente-Echeverría F 26, 212  
 Vallejos C 127, 270  
 Vallejos O 125  
 Vamshidar G 106  
 Varas M 32, 267  
 Varas M A 55  
 Vargas D 276  
 Vargas S 233  
 Vargas Serrano M P 130  
 Vásquez C 107,113  
 Vásquez F 271  
 Vásquez G 264  
 Vásquez-Martínez Y 94  
 Vásquez-Ponce F 156, 194, 204  
 Vega F 264  
 Vega Gálvez A 259  
 Velásquez F 91, 129, 212  
 Velozo P 68  
 Vera M 79  
 Vera P 111  
 Vera-Wolf P 178, 272  
 Verdejo J 71  
 Verdugo J 74  
 Verdugo L 73  
 Vergara L 219  
 Vianney A 8, 33  
 Vicente M 7  
 Vidal G 220  
 Vidal M 148  
 Vidal R 65, 115, 217, 220  
 Villagra N 63, 105, 155, 159, 208  
 Villagrán-Mancilla D 273



Villalba M 54, 134  
Villavicencio L 200  
Vuskovic D 123

## W

Waldor M 30  
Walsh M 30  
Wattiez R 218  
Wentworth D 88  
Wiedmann M 215  
Wiese G 205  
Wittwer G 274

## Y

Yañez A 107, 237, 245  
Yáñez C 71, 210  
Yuivar Y 275

## Z

Zapata C 80, 225  
Zhang R 79



# XXXVIII Congreso Chileno de Microbiología

22-25 de noviembre 2016

Hotel Villa del Rio, Valdivia, Chile

