

LÍNEA

1

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE SENSORES MOLECULARES

Esta línea de investigación tiene como objetivo principal develar los mecanismos que conducen a la apertura de los canales de iones en respuesta a un estímulo. Estos pueden ser cambios en el potencial eléctrico a través de la membrana celular, aumentos en el calcio intracelular o cambios en la temperatura ambiente. Las preguntas más importantes que tratamos de contestar son: ¿Existe un sensor de temperatura? Y de ser así ¿cuál es su estructura? ¿Cómo se transforman las energías eléctricas, químicas o térmicas en energía mecánica (la apertura del canal)? Para responder estas preguntas empleamos técnicas electrofisiológicas (*voltage clamp* y *patch clamp*), fluorescencia (*lathanide resonance energy transfer (LRET)* y *voltage clamp fluorometry*) y técnicas de modelación molecular en conjunto con la Línea 5 (dinámica molecular, *docking*, etc.). Nuestro grupo de investigadores está actualmente investigando el funcionamiento de los sensores de potencial en el canal de protones (Hv), en los canales de potasio activados por Ca^{2+} (BK), en los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (Cav) y en hemicanales formados por conexinas (Cx). Los mayores logros hasta la hora han sido poder detectar las corrientes de compuerta en los canales Hv y los movimientos de un dominio extracelular en un canal Cx usando *voltage clamp fluorometry*. También hemos determinado que los canales TRPM8 (un receptor de frío) son capaz de abrirse solo bajando la temperatura a través de transiciones independientes del potencial de membrana y la naturaleza molecular del sitio que une fosfatidilinositol 4,5-fosfato en los canales TRPV1 (un receptor de calor).

INVESTIGADORES RESPONSABLES

Ramón Latorre, Alan Neely, Carlos González.

CO-INVESTIGADORES Francisco Bezanilla (University of Chicago), Miguel Holmgren (NIH, USA), Osvaldo Alvarez (Universidad de Chile), Peter Larsson (University of Miami), Luis Cuello (Texas Tech University), Riccardo Olcese (University of California at LA).

PUBLICACIONES

Qiu F, Rebolledo S, **González C**, Larsson HP (2013). Subunit interactions during cooperative opening of voltage-gated proton channels. *Neuron*. 77(2):288-98.

Pantazis A, Savalli N, Sigg D, **Neely A**, **Olcese R** (2014). Functional heterogeneity of the four voltage sensors of a human L-type calcium channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 111(51):18381-6.

Raddatz N, Castillo JP, **González C**, **Alvarez O**, **Latorre R** (2014). Temperature and voltage coupling to channel opening in transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8). *J Biol Chem*. 289(51):35438-54. (Selected as JBC paper of the week).

Pupo A & **González C** (2014). In pursuit of an inhibitory drug for the proton channel (Hv1). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 111(27):9673-74.

Jabba S, Goyal R, Sosa-Pagán JO, Moldenhauer H, Wu J, Kalmeta B, Bandell M, **Latorre R**, Patapoutian A, Grandl J (2014). Directionality of Temperature Activation in Mouse TRPA1 Ion Channel Can Be Inverted by Single-Point Mutations in Ankyrin Repeat Six. *Neuron*. 82(5):1017-1031.

Castillo, JP, Rui H, BasilioD, Roux B, **Latorre R**, **Bezanilla F** and **Holmgren, M** (2015). Mechanism of potassium ion uptake by Na^+/K^+ -ATPase. *Nature Comm*. July 24 6:7622

Diaz-Franulic I, Poblete H, Miño G, **González C** and **Latorre R** (2016). Allosterism and Structure in Thermally Activated Transient Receptor Potential Channels *Ann. Rev. Biophys.* 45:371-398

Pinto BI, García IE, Pupo A, Retamal MA, **Martínez AD**, **Latorre R** and **González C** (2016). Charged residues at the first transmembrane region contribute to the voltage dependence of connexins slow gate. *J Biol Chem* 291:15740-52

LÍNEA

2

SEÑALIZACIÓN
CELULAR

Esta línea estudia los mecanismos moleculares que permiten la señalización celular. Combinando técnicas moleculares, electrofisiológicas, de fluorescencia, y dinámica molecular, los investigadores han dilucidado: (1) las estructuras moleculares involucradas en oligomerización y función de las conexas 26 y 43, moléculas que forman hemicanales y canales de uniones en hendidura. Estos canales median vías de comunicación intercelular, y ciertas mutaciones en genes que los codifican en la cóclea y otros tejidos causan sordera sindrómica y no-sindrómica. (2) También estudiamos el rol de los hemicanales formados por conexas en la respuesta inflamatoria de enfermedades neurodegenerativas; (3) nuevos roles de canales de panexinas en la comunicación celular, en procesos de plasticidad sináptica, excitabilidad neuronal, neurosecreción y potenciación de la contracción del músculo esquelético. (4) Además, estudiamos como dinamina-2, una GTPasa responsable de la endocitosis, controla la dinámica de actina cortical durante el proceso de liberación de transmisores, y como mutaciones en dinamina-2, que causan miopatías, perturban el transporte intracelular de las proteínas necesarias para el metabolismo del músculo esquelético.

INVESTIGADORES PRINCIPALES

Juan Carlos Sáez¹, Ana María Cárdenas, Agustín Martínez.

INVESTIGADOR JOVEN Helmut Sánchez.

PUBLICACIONES DESTACADAS

Cea LC, Cisterna BA, Puebla C, Frank M, Figueroa XF, Cardozo C, Willecke K, **Latorre R, Sáez JC** (2013). De novo expression of connexin hemichannels in denervated fast skeletal muscles leads to atrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 110(40):16229-16234.



Schalper KA, Palacios-Prado N, Retamal MA, Shoji KE, **Martínez AD, Sáez JC** (2008). The connexin hemichannel composition determines the FGF-1-induced membrane permeability and free Ca²⁺i responses. *Mol Biol Cell* 19(8):3501-3513.

González-Jamett AM, Momboisse F, Haro-Acuña V, Bevilacqua JA, Caviedes P, **Cárdenas AM** (2013). Dynamin-2 function and dysfunction along the secretory pathway. *Front Endocrinol* 4:126.

Jara O, Acuña R, García IE, Maripillán J, Figueroa V, **Sáez JC, Araya-Secchi R, Lagos CF, Perez-Acle T, Berthoud VM, Beyer EC, Martínez AD** (2012). Critical role of the first transmembrane domain of Cx26 in regulating oligomerization and function. *Mol Biol Cell* 23(17):3299-3311.

González-Jamett AM, Momboisse F, Guerra MJ, Ory S, Báez-Matus X, Barraza N, Calco V, Houy S, Couve E, **Neely A, Martínez AD, Gasman S, Cárdenas AM** (2013). Dynamin-2 regulates fusion pore expansion and quantal release through a mechanism that involves actin dynamics in neuroendocrine chromaffin cells. *PLoS One* 8(8):70638.

García IE, Maripillán J, Jara O, Ceriani R, Palacios-Muñoz A, Ramachandran J, Olivero P, Perez-Acle T, **González C, Sáez JC, Contreras JE, Martínez AD** (2015). Keratitis-ichthyosis-deafness syndrome-associated Cx26 mutants produce nonfunctional gap junctions but hyperactive hemichannels when co-expressed with wild type Cx43. *J Invest Dermatol* 135(5):1338-47.

¹ Investigador de la Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC).



LÍNEA

3

GENÉTICA Y DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO

Los investigadores de esta línea han demostrado que, en el desarrollo temprano, los olores ambientales pueden inhibir la expresión de receptores olfatorios y se encuentran explorando los mecanismos que subyacen a esta interacción epigenética. Descubrieron que las células madres adultas tienen la capacidad de generar células endocrinas esenciales en la pubertad, observación que condujo, mediante el uso del pez cebra como sistema modelo, a iniciar un trabajo de colaboración para analizar los genes involucrados en el síndrome de Kallmann. Con el objetivo de entender cómo los neuropéptidos regulan la expresión de un comportamiento secuencial, han codificado genéticamente en la *Drosophila* indicadores de Ca^{2+} . También han progresado en el entendimiento de cómo el reloj circadiano impone un ritmo diario al comportamiento. Una nueva línea de investigación está explorando cómo los parámetros ambientales y la dieta, tales como la presencia o ausencia de alimentos, y la presencia de determinados alimentos, cambia el comportamiento de los animales. En la actualidad, el grupo está trabajando en la identificación de elementos discretos de dieta que provocan un cambio en el comportamiento y las dianas moleculares en el huésped que cambian su expresión para provocar el cambio de comportamiento. Para este fin, se utiliza *C. elegans* como organismo modelo implementando estrategias que incluyen la genómica funcional, ensayos de comportamiento, técnicas moleculares y celulares, y enfoques OMICS.

INVESTIGADORES PRINCIPALES

Kathleen Whitlock, John Ewer, Andrea Calixto¹.

PUBLICACIONES DESTACADAS

Calfún C, Dominguez C, **Pérez-Acle T and Whitlock KE** (2016). Changes in olfactory receptor expression are correlated with odor exposure during early development in the zebrafish (*Danio rerio*). *Chem Senses*. 41(4):301-12.
Whitlock KE (2015). The loss of scents: Do defects in olfactory sensory neuron development underlie human



disease? Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews 105(2):114-25 Cortes-Campos C, Letelier J, Ceriani R and **Whitlock KE** (2015). Zebrafish adult-derived hypothalamic neurospheres generate gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons. *Biol Open*. 4(9):1077-86

Torres-Paz J and **Whitlock KE** (2014). Olfactory sensory system develops from coordinated movements within the neural plate. *Dev Dyn*. 2014 Dec;243(12):1619-31.

Diao F, Mena W, Shi J, Park D, Diao F, Taghert P, **Ewer J** and White BH (2016). The Splice Isoforms of the *Drosophila* Ecdysis Triggering Hormone Receptor have developmentally distinct roles. *Genetics*. 202(1): 175-189.
 Krüger E, Mena W, Lahr EC, Johnson EC and **Ewer J** (2015). Genetic analysis of Ecdysis hormone action during *Drosophila* larval ecdysis. *Development*. 142(24): 4279-4287.

Diao F, Ironfield H, Luan H, Diao F, Shropshire WC, **Ewer J**, Marr E, Potter CJ, Landgraf M and White BH (2015). Plug-and-Play Genetic Access to *Drosophila* Cell Types using Exchangeable Exon Cassettes. *Cell Rep*. 10(8): 1410-1421.

Lahr EC, Dean D, **Ewer J** (2012). Genetic analysis of ecdysis behavior in *Drosophila* reveals partially overlapping functions of two unrelated neuropeptides. *J. Neurosci*. 32(20): 6819-29.

Calixto A (2015). Life without food and the implications for neurodegeneration. *Advances in Genetics*, Volume 92. Kelley M, Yochem J, Krieg M, **Calixto A**, Heiman MG, Kuzmanov A, Meli V, Chalfie M, Goodman MB, Shaham S, Frand A, Fay DS (2015). FBN-1, a fibrillin-related protein, is required for resistance of the epidermis to mechanical deformation during *C. elegans* embryogenesis. *eLife* Mar 23;4.

¹ Investigadora de la Universidad Mayor, Chile

LÍNEA

4

NEUROCIENCIA DE
CIRCUITOS Y SISTEMAS

Utilizando una variedad de herramientas celulares y moleculares, combinadas con electrofisiología y conducta, en esta línea estamos interesados en comprender como los estímulos que nos llegan del mundo externo son transformados por nuestros circuitos neuronales para generar conductas. A la fecha, hemos encontrado que «biomarcadores» de la enfermedad de Alzheimer, que están presentes en el cerebro del roedor *degus* durante el envejecimiento, también se encuentran en su retina, afectando su función fisiológica normal. Además estamos interesados en dar cuenta de los mecanismos involucrados en la alteración de la plasticidad neural en distintos circuitos neuronales después de inducir un estrés postnatal en roedores. Nuestros resultados sugieren una participación diferencial de receptores AMPA y NMDA. Mediante el registro de poblaciones de neuronas, complementado con registros de célula única, técnicas histológicas y de imágenes, estamos estudiando la codificación neuronal en la retina y otros circuitos cerebrales como la corteza y el hipocampo. En el sistema olfatorio (bulbo olfatorio y telencéfalo de teleósteos), estudiamos las oscilaciones en los potenciales de campo y la información que ellas contienen, y un nuevo camino regulatorio mediado por óxido nítrico. No menor es nuestro interés en investigar los mecanismos celulares y moleculares que subyacen algunas enfermedades neurológicas, como los trastornos del ánimo, con el fin de proveer nuevos conocimientos que podrían facilitar el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de estas enfermedades.

INVESTIGADORES PRINCIPALES

Adrián G. Palacios, Oliver Schmachtenberg, Andrés E. Chávez, Pablo R. Moya.

INVESTIGADORES ASOCIADOS Alfredo Kirkwood (Johns Hopkins University).

INVESTIGADOR JOVEN Álvaro Ardiles.



Dr. Chiayu Q. Chiu, la primera Investigadora Leader del CINV-Max Planck Tandem Research Group, forma parte de esta Línea.

PUBLICACIONES DESTACADAS

Elgueta, C., Vielma, A.H., **Palacios, A.G.** and **Schmachtenberg, O.** (2015). Acetylcholine induces GABA release onto rod bipolar cells through heteromeric nicotinic receptors expressed in A17 amacrine cells. *Front. Cell. Neurosci.* 9(6):1-11, doi: 10.3389/fncel.2015.00006.

Metabotropic Glutamate Receptors Induce a Form of LTP Controlled by Translation and Arc Signaling in the Hippocampus. Wang H, **Ardiles AO**, Yang S, Tran T, Posada-Duque R, Valdivia G, Baek M, Chuang YA, **Palacios AG**, Gallagher M, Worley P, **Kirkwood A.** *J Neurosci.* 2016 Feb 3;36(5):1723-9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0878-15.2016.

Park J.*, **Chávez A.E***, Mineur YS., Morimoto-tomita M., Lutz S., Kim K.S., Picciotto M.R., Castillo P.E., Tomita S. (2016) CaMKII phosphorylation of TARPγ-8 is a mediator of LTP and Learning and Memory. **Equal Contribution; Neuron.* 2016 Oct 5;92(1):75-83. doi: 10.1016/j.neuron.2016.09.002.

Moya PR, Wendland JR, Rubenstein LM, Timpano KR, Heiman GA, Tischfield JA, King RA, Andrews AM, Ramamoorthy S, McMahon FJ, Murphy DL (2013) Common and rare alleles of the serotonin transporter gene, SLC6A4, associated with Tourette's disorder. *Mov. Disord.* 28(9):1263-70. doi: 10.1002/mds.25460

LÍNEA

5

BIOLOGÍA COMPUTACIONAL Y SIMULACIÓN MOLECULAR

Los investigadores que trabajan en la línea 5 aplican métodos matemáticos y de simulación computacional avanzados para estudiar procesos de comunicación intercelular, activación de canales iónicos, dinámica neuronal y redes neuronales. Entre los principales hallazgos, han descubierto recientemente un bolsillo de agua localizado en la región citoplasmática del hemicanal de conexina 26 humana que es crucial para el funcionamiento de este canal. Asimismo, han propuesto un rol para la distribución de carga en la selectividad iónica de estos canales. Por otro lado, un círculo virtuoso entre modelamiento y experimentación ha permitido la determinación de relaciones estructura-función para canales de potasio (Shaker y BK), así como para canales de calcio y TRP. En este sentido, nuestros investigadores han contribuido al entendimiento de cómo las dimensiones del poro determinan el transporte iónico en canales de potasio. A través de análisis estructurales y de secuencias, nuestros investigadores han identificado el proceso de adaptación de pingüinos viviendo en el ecuador y el polo sur. En el área de excitabilidad neuronal, nuestros investigadores han interpretado matemáticamente la contribución del canal TRPM8 a la sensación aguda del frío, generando nuevas aproximaciones al modelamiento estocástico en neurociencia.

INVESTIGADORES PRINCIPALES

Danilo González-Nilo¹, David Naranjo, Tomás Pérez-Acle², Patricio Orio.

INVESTIGADOR JOVEN José Antonio Gárate (Fundación Ciencia & Vida)

COINVESTIGADORES Ricardo Cabrera (Universidad de Chile), Alberto J. Martín (Fundación Ciencia & Vida).

PUBLICACIONES DESTACADAS

Orio P, Parra A, Madrid R, González O, Belmonte C, Viana F (2012). Role of I_h in the Firing Pattern of Mammalian Cold Thermoreceptors. *J Neurophysiol* 108(11):3009-3023.



Poblete H, Oyarzún I, Olivero P, Comer J, Zúñiga M, Sepúlveda RV, Báez-Nieto D, **González León C**, **González-Nilo FD**, **Latorre R** (2015). Molecular determinants of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PI(4,5)P₂) binding to transient receptor potential V1 (TRPV1) channels. *J Biol Chem*. 290(4):2086-98.

Cornejo I, Andrini O, Niemeyer MI, Marabolí V, **González-Nilo FD**, Teulon J, Sepúlveda FV, Cid LP (2015). Identification and functional expression of a glutamate- and avermectin-gated chloride channel from Caligus rogerscresseyi, a southern Hemisphere sea louse affecting farmed fish. *PLoS Pathog*. 290(4): 2086-98.

Araya-Secchi R, **Pérez-Acle T**, Kang S, Huynh T, Bernardin A, Garate JA, Escalona Y, **Martínez A**, García I, **Sáez JC**, Zhou R (2014). Characterization of a novel water pocket inside the human Cx26 hemi-channel structure. *Biophys J*. 107(3):599-612.

Pezo D, Soudry D, **Orio P** (2014). Diffusion approximation-based simulation of stochastic ion channels: which method to use?. *Front Comput Neurosci*. 8:139.

Escalona Y, Garate JA, Araya-Secchi R, Huynh T, Zhou R, **Pérez-Acle T** (2016). Exploring the membrane potential of simple dual-membrane systems as models for Gap-junction channels. *Biophys J*. 110(12):2678-88

Olivares E, Salgado S, Maidana JP, Herrera G, Campos M, Madrid R, **Orio P** (2015). TRPM8-Dependent Dynamic Response in a Mathematical Model of Cold Thermoreceptor. *PLOS One*. 10:e0139314.

Castillo JP, Sánchez-Rodríguez JE, Hyde HC, Zaelzer CA, Aguayo D, Sepúlveda RV, Luk LY, Kent SB, **González-Nilo FD**, Bezanilla F, **Latorre R** (2016) β 1-subunit-induced structural rearrangements of the Ca²⁺- and voltage-activated K⁺ (BK) channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 113(23):E3231-9

Díaz-Franulic, I., Sepúlveda R, Navarro-Quezada N, **González-Nilo FD** and **Naranjo D** (2015). Pore dimensions and the role of occupancy in unitary conductance of Shaker K-channels. *J Gen Physiol* 146:133-146.

Moldenhauer H, Díaz-Franulic I, **González-Nilo FD**, **Naranjo D** (2016). Effective pore size and radius of capture for K⁺ ions in K-channels. *Sci Rep*. 6:19893.

Naranjo D, Moldenhauer H, Pincuntureo M and Díaz-Franulic I (2016). Pore size matters for potassium channel conductance. *J Gen Physiol* 148(4):277-91.

¹ Investigador de la Universidad Andrés Bello.

² Investigador de la Fundación Ciencia & Vida.