



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Padronização da atividade glutamil-transferase da enzima Glutamina Sintetase em fatias hipocampais e cultura de astrócitos.
Autor	JAIZA FRIAS PEDROSO
Orientador	MARINA CONCLI LEITE

A enzima Glutamina Sintetase (GS), presente principalmente em astrócitos, tem importante função no Sistema Nervoso Central (SNC) na detoxificação da amônia, catalisando a formação de glutamina a partir de glutamato e NH_4^+ . Além disso, esta enzima participa do ciclo glutamato-glutamina, uma vez que a glutamina formada é transferida para os neurônios onde é novamente convertida a glutamato, principal neurotransmissor excitatório do SNC. Ensaios radiométricos são amplamente usados para determinar a atividade desta enzima pela sua alta sensibilidade. No entanto, estes ensaios exigem um alto custo e são de difícil manipulação em comparação com um ensaio colorimétrico. A GS, além da atividade de produção de glutamina, possui outro sítio catalítico que exerce a atividade glutamil-transferase, produzindo γ -glutamilhdroxamato a partir de glutamina e NH_4^+ . Esta atividade pode ser determinada de forma colorimétrica. Assim, o objetivo deste trabalho foi padronizar e avaliar a atividade da GS por um ensaio colorimétrico a partir da atividade glutamil-transferase desta proteína em fatias hipocâmpais e em cultura de astrócitos. Amostras de fatias hipocâmpais e cultura de astrócitos, em diferentes concentrações de proteína total, foram lisadas e incubadas a 37°C em tampão A contendo os substratos da enzima e seus cofatores. A reação foi parada com tampão B (FeCl_3 1,85M, TCA 1M e HCl 6M) em diferentes tempos de incubação. O excesso de proteína precipitado foi separado por centrifugação e o sobrenadante foi lido a 530nm. A atividade da enzima foi linear com o tempo de incubação entre 5 a 30 min, tanto em hipocampo quanto em astrócitos, assim como foi linear com a quantidade de proteína total da amostra no meio de incubação. A curva de GS, feita a partir do produto final de reação em diferentes concentrações, teve sensibilidade de 0,15 mM, sendo linear até 40 mM. Sabe-se que a GS tem um papel fundamental no SNC e o comprometimento da sua atividade já foi visto em uma série de doenças neurodegenerativas, como a Encefalopatia Hepática, Isquemia e Alzheimer. Um ensaio confiável, preciso e barato torna-se necessário para a investigação desta enzima em condições normais e patológicas.

Apoio financeiro: FAURGS, CNPq, CAPES.