

EXTRAÇÃO DE UMA ATP DIFOSFOHIDROLASE (EC 3.6.1.5) EM MEMBRANA SINÁPTICA DE CÉREBRO DE RATO. *Leticia S. Koester, Tanara Emanuelli, Ana M. O. Battastini, João J. F. Sarkis (orientador).* (Departamento de Bioquímica, Instituto de Biociências, UFRGS).

ATP difosfohidrolases (Apirase, EC 3.6.1.5) são enzimas que podem hidrolisar tri- e di-fosfonucleosídeos a seus equivalentes monofosfonucleosídeos e fosfato inorgânico. Uma vez que o ATP é considerado um importante neurotransmissor no sistema nervoso central, tem sido proposto que esta enzima, junto com a 5'-nucleotidase, exerce um papel indispensável na completa hidrólise de ATP à adenosina na fenda sináptica. O conhecimento de que se esta enzima é periférica ou intrínseca à membrana sináptica, poderá ser importante para um maior entendimento de sua função e possíveis interações com outros componentes da membrana. Com esse objetivo, neste trabalho, realizamos a extração da atividade ATPásica e ADPásica da membrana sináptica através da exposição da mesma a um tampão (Tris HCl 10mM, pH 7.4) contendo, ou não, os seguintes agentes: NaCl 0,5M (baixa força iônica); DTT 2mM (agente redutor); DTT 2mM + NaCl 0,5M (agente redutor e baixa força iônica); KCl 3M (alta força iônica); EDTA 10mM (agente quelante) e carbonato de sódio 0,1M (condições alcalinas), que são conhecidamente capazes de extrair seletivamente proteínas periféricas de membrana. Após centrifugação, a atividade enzimática presente no "pellet" e sobrenadante foi ensaiada e determinada quantitativamente por métodos colorimétricos. Os resultados sugerem que esta ATP difosfohidrolase apresenta um comportamento de proteína integral de membrana, já que em nenhuma das condições acima ocorreu extração de quantidade significativa da enzima. (FINEP, CNPq).