

175

EFEITO DE MODIFICADORES DE AMINOÁCIDOS NA ATIVIDADE DA ATP DIFOSFOIDROLASE EM SINAPTOSSOMAS DE CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS. *Andréia Buffon, Márcia R. Wink, Carla D.*

Bonan, Ana Maria O. Battastini, João J. F. Sarkis (Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS).

Nosso laboratório tem estudado a enzima ATP difosfoidrolase (apirase) em fração sinaptossomal de sistema nervoso central. Entretanto, ainda não se tem conhecimento sobre os aminoácidos envolvidos na ligação do substrato e/ou na catálise. O objetivo deste estudo é investigar quais os aminoácidos estão envolvidos na atividade da enzima, pelo uso de modificadores químicos. Sinaptossomas de córtex cerebral de ratos foram preparados e a atividade da enzima foi ensaiada na presença de vários modificadores. A inativação (percentagem de inativação quando comparada com o controle da atividade da enzima) das atividades ATPásicas e ADPásica promovida pelos seguintes modificadores foi determinada: fenilgloixal (ATP-83%, ADP-77%); anidrido maleico (ATP-89%, ADP-74%); reagente de Koshland (ATP-96%, ADP-87%); Woodward K (ATP-71%, ADP-70%) e carbodimida (ATP-44%, ADP-27.5%). A participação de grupos hidroxil e sulfidril nas atividades ATPásicas e ADPásicas foram excluídas, pois o uso de 0.1mM de PMSF e 1mM de DTNB não afetaram as atividades. Para se investigar quais resíduos de aminoácidos participam na ligação do substrato com o sítio ativo da enzima, foi realizada a proteção com ATP e ADP. O efeito protetor foi observado com os seguintes modificadores: fenilgloixal e reagente de Woodward K, indicando que arginina e grupos carboxílicos estão envolvidos no sítio de ligação do substrato. O envolvimento de outros resíduos de aminoácidos estão sendo testados (CNPq, FAPERGS, FINEP).