

350

PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO DE “DOT-IMMUNOBINDING” PARA IMUNODETECÇÃO DE PROTEÍNAS DO CITOESQUELETO DE ASTRÓCITOS. *Germano De Carli, Günther Gehlen, Paula Santos, Carlos Alberto Gonçalves e Elizabete Rocha* (Departamento de Bioquímica – ICBS – UFRGS).

Muitos trabalhos na literatura científica mostram que em astrócitos ocorre uma expressão ontogenética de filamentos intermediários, como vimentina (VIM) e proteína glial fibrilar ácida (GFAP), em hipocampo de ratos. Com o desenvolvimento, o imunoconteúdo de VIM vai decaindo até que por volta do P21 a GFAP se sobressai, chegando a um platô na idade adulta. Em trabalho anterior (ROCHA, E. Tese Doutorado; 1996), utilizando eletroforese bi-dimensional não foi observada a forma fosforilada de VIM em hipocampo de ratos adultos controles e tratados com lítio. Para verificarmos a presença de VIM imunodetectável nestas amostras, testou-se o método de “dot-immunobinding”, utilizando o aparelho BIO-DOT®. Após testes apropriados, definiu-se um protocolo padrão, para o qual as amostras foram solubilizadas em SDS 1%. Aplicadas sobre membrana de nitrocelulose, em diferentes concentrações e submetidas à imunodeteção com anticorpo anti-VIM, a reação de quimioluminescência foi pelo método do luminol e quantificado no densitômetro CS-9301PC. Este método, adequadamente padronizado, mostrou-se eficiente para detectar a presença de VIM, mesmo em baixas quantidades, viabilizando os estudos sobre esta proteína em animais adultos tratados com lítio, em concentrações terapêuticas e tóxicas para melhor caracterizar-se a gliose reativa dependente do tratamento com lítio (Rocha et al., submetido Neuroreport, 1998).(CNPq-PIBIC,PRONEX,FINEP,CNPq).