

## Sessão 12 Bioquímica B

091

**PARÂMETROS CINÉTICOS DA HIDRÓLISE EXTRACELULAR DE ATP E ADP EM CÉLULAS ACINARES DE GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES DE RATOS.** *Rafael Augusto Chiarelli, Sandra Henz, João José Freitas Sarkis (orient.)* (UFRGS).

A hidrólise extracelular de ATP e ADP ocorre por ação de enzimas chamadas ecto-nucleotidases. Os parâmetros cinéticos ( $K_m$  e  $V_{máx.}$ ) são importantes informações na caracterização das enzimas envolvidas nesta catálise, bem como para realização de outros ensaios experimentais. O objetivo deste trabalho é estabelecer os valores dos parâmetros cinéticos para a hidrólise extracelular do ATP e do ADP, bem como determinar através de um plote de competição se um ou mais sítios ativos estão envolvidos nestas atividades enzimáticas em células acinares de glândulas submandibulares de ratos. Métodos e Resultados: As células acinares foram extraídas das glândulas por digestão com colagenase (1 hora/ 37°C) seguida de 3 centrifugações à 40 g por 5 min. As células foram mantidas em meio DMEM 5% SFB à 37°C até o ensaio enzimático. As células foram incubadas em meio Hepes 10mM (pH 7, 4), contendo glicose 10mM, KCl 5mM,  $CaCl_2$  10mM, NaCl 140mM à 37°C e o ensaio enzimático foi iniciado com adição de ATP ou ADP (0, 05-1mM). A reação foi parada com a adição de TCA (5% concentração final) gelado e o Pi liberado foi mensurado pelo método de Chan *et al.* (1986). A  $V_{máx.}$  para a hidrólise do ATP e ADP foram atingidas com concentrações superiores a 0, 5mM e foram calculadas em 500 nmoles de Pi/mg de prot./min e 200 nmoles de Pi/mg de prot./min respectivamente, com um  $K_m$  calculado em @0, 2mM para os dois substratos. O plote de competição demonstrou que ambos substratos são hidrolisados no mesmo sítio catalítico de uma mesma enzima. Conclusão: Os valores próximos de  $K_m$  para as hidrólises de ATP e de ADP (@0, 2mM) e o plote de competição, em conjunto com outros dados prévios, indicam fortemente que a enzima envolvida em ambas atividades hidrolíticas é a ecto-ATPdifosfohidrolase (e-NTPDase). Apoio: CNPq-PIBIC-UFRGS.