

173

**INVESTIGAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE ATP E ADP E EXPRESSÃO DA ECTO-APIRASE/CD39 EM ASTRÓCITOS DE HIPOCAMPO DE RATOS.** *Tamajusuku, A.S.K., Wink, M. R., Braganhol, E., Karl, J., Sarkis, J. J. F., Battastini, A. M. O.* (Departamento de Bioquímica, UFRGS).

Nucleotídeos como ATP e ADP são componentes sinalizadores extracelulares no cérebro e em outros tecidos. Astrócitos são a principal fonte de ATP extracelular no SNC. Enzimas localizadas na superfície externa da membrana plasmática estão envolvidas no metabolismo destas moléculas em muitos tipos celulares, provavelmente em todos os tecidos. Ecto-apirase é uma proteína integral de membrana que pertence à classe das ATPases do tipo-E e hidrolisa nucleosídeos tri- e difosfatados até seus respectivos nucleosídeos monofosfato na presença de cátions divalentes. No presente trabalho, nós investigamos a hidrólise de ATP e ADP em astrócitos de hipocampo de ratos e a presença da ecto-apirase por imunodeteção. Para determinar a atividade da ecto-apirase em culturas de astrócitos, nós medimos a liberação de fosfato inorgânico (Pi) em um meio de incubação contendo CaCl<sub>2</sub>, NaCl, KCl, glicose, Hepes pH 7,4 e ATP ou ADP a 37°C, baseado no método colorimétrico do verde malaquita. Foram feitos controles sem a adição de nucleotídeos e com a adição de nucleotídeos na ausência de células. A reação foi linear com o tempo até 20 minutos. A concentração de substrato escolhida foi de 3 mM para ambos nucleotídeos. A razão de hidrólise para o ATP foi muito alta, sendo em torno de dez vezes maior que a de ADP. Foi realizada também a imunodeteção da apirase usando o anticorpo monoclonal anti-CD39 na diluição de 1:100. A análise de Western blot indicou a presença de uma banda de 56 KDa reconhecida pelo anti-CD39. Isto indica que ATP e ADP estão sendo hidrolisados pela ecto-apirase em astrócitos de hipocampo de rato. (Fapergs).