

026

**PADRONIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE INCUBAÇÃO PARA OXIDAÇÃO DE L-[U-<sup>14</sup>C-GLUTAMINA] A CO<sub>2</sub> EM HOMOGENEIZADO DE CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS JOVENS.** *Luciane da Silva; Karine B. de Souza; Iara Fagundes; Adriane Huth; Liane Rotta; Marcos Perry* (Departamento de Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre-RS)

O cérebro utiliza uma variedade de substratos, entre os quais a glutamina, para obtenção de energia e precursores para neurotransmissores. O objetivo deste trabalho é estabelecer as condições ideais de oxidação de L-[U-<sup>14</sup>C-GLUTAMINA] (curvas de ATP e ADP, curvas de tempo de incubação e aeração) em homogeneizado de córtex cerebral de ratos jovens com 25 dias de idade. Os córtices cerebrais foram homogeneizados em Potter Helvenjen e as alíquotas das estruturas homogeneizadas foram incubadas em meio de reação com volume final de 0.7mL, contendo: 0.05μCi de L-[U-<sup>14</sup>C-GLUTAMINA], 2mM glutamina, 58mM KCl, 0.3mM EDTA, 11mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5mM MgSO<sub>4</sub>, 100mM TRIS-HCl, 24mM NAD, 150mM sacarose, pH 7.4 (*Roeder et al, J. Biochem., 1984; 219: 125-130*). Para confecção da curva de proteína utilizou-se quantidades de 0.28 a 2.25mg e para as curvas de ATP e ADP as concentrações foram 0.5-1.0-2.0mM e 0.125-1.0-2.0mM respectivamente. O meio de reação oxigenado durante 15-30 e 60 segundos em mistura de gás carbogênio e incubadas em banho Maria Dubnoff sob agitação durante 30, 60 e 90 minutos a reação foi interrompida por adição de 250μL TCA 50% e o CO<sub>2</sub> produzido foi capturado em solução de hidróxido de hiamina. Contou-se a radioatividade incorporada a CO<sub>2</sub> em aparelho de cintilação líquida. A quantidade de proteína foi determinado pelo método de Lowry. Estabeleceu-se com estes experimentos, que o meio de reação (0.7ml) deve conter entre 0.75 e 1.5mg de proteínas. Encontrou-se o efeito estimulador da oxidação de glutamina a CO<sub>2</sub> pelo ATP e um patamar de saturação começando em 1mM. Não foi observada variação na oxidação de glutamina a CO<sub>2</sub> com diferentes tempos de oxigenação, sendo 30 segundos o tempo escolhido. (FAPERGS-CNPq-PROPESQ-UFRGS)