

**CARACTERIZAÇÃO DA UNIÃO DE [<sup>3</sup>H]GTP-N A MEMBRANAS SINÁPTICAS PURIFICADAS DE CÓRTEX DE RATOS.** *Alves, L.B.<sup>1</sup>; Pagel, F.W.<sup>1</sup>; Emanuelli, T.<sup>1</sup> e Souza, D.O.<sup>1</sup>* (1-Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. 2- Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, CCR, UFSM).

Existem evidências crescentes de que os nucleotídeos da guanina (NG) além de modularem intracelularmente a neurotransmissão através da interação com proteínas G também podem atuar através de um mecanismo extracelular. O estudo da união de [<sup>3</sup>H]NG a membranas sinápticas pode contribuir para a caracterização do sítio responsável pelas ações extracelulares dos NG. O nosso grupo tem estudado a união de [<sup>3</sup>H]GTP-N (um análogo não hidrolisável do NG GTP) a preparações de membranas sinápticas cerebrais não purificadas. Estas preparações contêm mitocôndrias, organelas que também possuem sítios de união para NG, podendo mascarar a união dos [<sup>3</sup>H]NG ao sítio extracelular. Assim, o objetivo do presente estudo é investigar as características cinéticas da união de [<sup>3</sup>H]GTP-N a membranas sinápticas purificadas de córtex de rato, com o intuito de avaliar apenas a união de [<sup>3</sup>H]GTP-N a sítios presentes na membrana celular (proteínas G e o provável sítio extracelular). As membranas foram purificadas de córtex cerebral de ratos, segundo Jones e Matus (1974). As curvas de tempo de associação de [<sup>3</sup>H]GTP-N na concentração de 40 nM revelaram a existência de um sítio de alta afinidade, que atinge o equilíbrio rapidamente, e na concentração de 800 nM um outro sítio com afinidade menor, que atinge o equilíbrio mais lentamente. A análise por HPLC da concentração de GTP-N no meio de incubação não revelou metabolização significativa deste composto durante a incubação, em nenhuma das concentrações testadas (40 ou 800 nM). Esses resultados indicam a presença de pelo menos duas populações distintas (quanto à afinidade pelo ligante e tempo para atingir o equilíbrio) de sítios ligantes de NG em membranas sinápticas purificadas. A diferença de afinidade pelo ligante entre estes dois sítios é provavelmente menor que 10, uma vez que a curva de saturação de [<sup>3</sup>H]GTP-N após 150 minutos de incubação, revelou apenas um sítio de união de [<sup>3</sup>H]GTP-N (Kd= 144 nM). Estes resultados diferem daqueles obtidos previamente com preparações não purificadas, nas quais se observou a existências de dois sítios em estudos de saturação. Provavelmente um dos sítios observados em preparações não purificadas correspondia a um sítio mitocondrial. (CNPq-PI e PRONEX)