

315

DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES IDEAIS PARA A MEDIDA DA ATIVIDADE DA ENZIMA SERINA PALMITOIL TRANSFERASE NA FRAÇÃO MICROSSOMAL DA LINHAGEM GRX. Paola de Andrade Mello, Fátima Guma, Vera Maria Treis Trindade (orient.)

(UFRGS).

Glicoesfingolipídios são componentes da membrana plasmática fundamentais na mediação da diferenciação e adesão celulares. A linhagem celular GRX é representativa das células estreladas hepáticas e possui dois fenótipos. Ambos fenótipos (miofibroblasto e lipócito) expressam glicoesfingolipídios constituídos por ceramidas com ácidos graxos diferentes. A formação da base esfingóide inicia com ação da serina palmitoil transferase (SPT) (EC 2.3.1.50), a qual corresponde à etapa marca-passo da rota biossintética dos esfingolipídios, seguida, pela ação da ceramida sintase. O foco deste estudo é a SPT que condensa o aminoácido serina com ácido graxo ativado palmitoil-CoA. O objetivo, então, foi estudar as condições ideais para a medida da atividade da SPT (tempo de incubação, quantidade de proteína, concentração dos substratos) visando uma futura comparação entre as atividades desta enzima nos dois fenótipos. A fonte de enzima foi a fração microsomal, obtida a partir das células miofibroblásticas. A atividade enzimática foi determinada usando [3-¹⁴C]-serina como precursor radioativo. A formação do produto 3-ceto-esfinganina foi confirmada através da análise por cromatografia em camada delgada seguida de autoradiografia. A partir dos resultados obtidos, foi possível estabelecer que a incubação seria de 30 min, a 37 °C, com agitação constante, usando 1, 2 mM de [3-¹⁴C]-serina (10mCi/mmol), 0, 16 mM de palmitoil-CoA e 45 mg de proteína microsomal. Estas, portanto, serão as condições para a avaliação comparativa das atividades da SPT nos dois fenótipos da linhagem GRX, envolvidos na homeostase hepática. (Fapergs).