

174

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA EXTRACELULAR DE ATP E ADP DEPENDENTE DE Ca^{++} E/OU Mg^{++} EM CULTURAS DE CÉLULAS DE SERTOLI. *Tiago R. Silva, Emerson A. Casali, Ana Maria O. Battastini, João José F. Sarkis, Elena A. Bernard* (departamento de bioquímica, icbs,ufrgs)

O papel das purinas e a sua ação em receptores purinérgicos já foi proposto em células de Sertoli, mas a regulação das enzimas envolvidas na hidrólise do ATP, ADP e AMP ainda não é totalmente conhecida. Neste trabalho nós procuramos caracterizar a enzima responsável pela hidrólise do ATP e verificar sua ação sobre o ADP. As culturas primárias de células de Sertoli de ratos Wistar de 17 dias foram mantidas por 4 dias em meio 1:1 (DMEM/F12) em placas de 24 wells ($0,6 \times 10^5$ células/well). No 4º dia, as culturas foram lavadas com o meio de reação 10mM HEPES (pH 7,4), contendo 135mM de NaCl, 5mM KCl, 10mM glicose e usadas no ensaio enzimático. As células foram incubadas a 34°C com o mesmo meio suplementado de 1 mM ATP ou ADP. Em algumas das culturas foram adicionado diferentes concentrações de Ca^{++} e/ou Mg^{++} . Para interromper a reação foi retirado o meio e misturado com TCA 10% em gelo. O Pi liberado foi dosado através de método colorimétrico. A proteína total foi dosada segundo método de Lowry. As células de Sertoli apresentam hidrólise enzimática de ATP e de ADP dependente de Ca^{++} e Mg^{++} . Nossos resultados não evidenciam aumento na hidrólise dos nucleotídeos com concentrações crescentes dos cátions (1, 2, e 5 mM), bem como com a adição simultânea de ambos. Experimentos em andamento procuram esclarecer se a hidrólise ocorre por atividade de uma ATPdifosfohidrolase ou por associação de uma ATPase e uma ADPase. (CNPq, FINEP)