

287

ASTRÓCITOS PERMEABILIZADOS COM DIGITONINA: AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE FUNCIONAL POR QUANTIFICAÇÃO PROTÉICA E IMUNOCITOQUÍMICA. Francine Tramontina, Juliana Karl, Carmem Gottfried, Carlos Alberto Gonçalves (Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS).

A técnica de permeabilização celular com digitonina vem contribuindo para o aprofundamento de diversos estudos por permitir o acesso aos sítios intracelulares comprometendo minimamente a compartimentalização celular e seus processos bioquímicos. Em nosso grupo, fazendo uso desta técnica, foram realizadas investigações acerca do sistema fosforilante da GFAP (proteína ácida fibrilar glial) e vimentina, componentes dos filamentos intermediários em astrócitos. Tendo em vista comprovar a integridade dos astrócitos permeabilizados com digitonina foram avaliados parâmetros tais como a perda protéica (proteína total, GFAP, vimentina, S100B) e a estrutura dos filamentos intermediários por imunocitoquímica. GFAP e vimentina, não tiveram seu conteúdo alterado com o processo de permeabilização, enquanto S100B, uma proteína ligante de Ca^{2+} de 21kDa, e uma proteína desconhecida de aproximadamente 90 kDa tiveram seu conteúdo reduzido em 40 % e 70% respectivamente. Foi observado que o conteúdo protéico total teve uma perda de somente 25% mostrando que, o protocolo de permeabilização (30mM de digitonina, 10 min) não parece causar grande dano à composição celular. Além disto, fazendo uso da técnica de imunocitoquímica vimos que a distribuição dos filamentos de GFAP em geral não é alterada. A presença de AMPcíclico desencadeia a formação de processos celulares da mesma forma que forskolina estimula em células intactas pela ativação da adenilato ciclase indicando a funcionalidade do sistema.(CNPq, FAPERGS, PRONEX, PROPESQ-UFRGS)