

264

EVIDÊNCIA DE DOIS SÍTIOS DE LIGAÇÃO DE [3H] Gpp(NH)p CINÉTICAMENTE DIFERENTES EM MEMBRANAS CORTICAIS DE CÉREBRO DE RATOS. *Vicente Antunes 1; Fernanda Pagel 1; Andrea Regner 1; Tatiana Emanuelli 1,2; Diogo Souza 1.* (1- Dept. Bioquímica, ICBS, UFRGS. 2- Dept. de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, CCR, UFSM).

Os nucleotídeos da guanina (NG) ligam à proteínas-G exercendo um papel regulatório na interação entre neurotransmissores e receptores acoplados a proteínas-G. Entretanto, existem crescentes evidências de que a habilidade dos NG de regular as propriedades de ligação e respostas celulares do neurotransmissor excitatório glutamato é mediada através de um mecanismo não relacionado às proteínas-G. Recentemente Paas et. al identificaram um sítio de ligação extracelular de NG em um receptor glutamatérgico de cerebelo de pintos. Gpp(NH)p, um análogo não hidrolisável de GTP, liga-se fortemente a proteínas-G de modo que o "binding" é estável mesmo após lavagem exaustiva, de forma que o binding, ou ligação, de [3H] Gpp(NH)p em membranas pré-tratadas com Gpp(NH)p não-radioativo é provavelmente relacionado a sítios de ligação de GTP extra-proteína-G. Utilizando estas propriedades nós observamos que [3H] Gpp(NH)p associou-se rapidamente com sítios de ligação em proteínas-G em membranas corticais de ratos (platô entre 5 e 10 minutos), com um Kd de 50 nM. Por outro lado, o binding de [3H] Gpp(NH)p a sítios não relacionados com proteínas-G (possivelmente relacionado ao domínio extracelular dos receptores glutamatérgicos) atinge um platô após uma hora, e apresenta um Kd de 320 nM. Estes resultados oferecem uma evidência de propriedades cinéticas distintas para dois sítios de ligação de nucleotídeos, o que pode ser uma ferramenta útil na medida do binding de NG a estes sítios e na investigação dos efeitos dos NG mediados por estes dois sítos distintos.