

349

**FOSFORILAÇÃO PROTÉICA EM CULTURA DE ASTRÓCITOS HIPOCAMPAIS DE RATO: EFEITO DE ÁCIDO OCADÁICO NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE CÁLCIO EXTERNO.** *Letícia Andrighetti, Carmem Gottfried, Juliana D. Karl, Susana Wofchuk, Richard Rodnight* (Departamento de Bioquímica – ICBS – UFRGS).

Os íons cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) desempenham um papel chave na regulação da atividade celular. Estudos prévios, em uma variedade de células, têm demonstrado a presença de sensores de  $\text{Ca}^{2+}$  a nível de membrana celular, os quais resultam em sinalização intracelular, em resposta a trocas na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  externo (Hebert e Brown, 1995; Zanotti e Charles, 1997). O presente trabalho investigou o efeito da presença ou ausência de  $\text{Ca}^{2+}$ , sobre a fosforilação protéica, durante a incubação de culturas de astrócitos hipocampais com [ $^{32}\text{P}$ ]fosfato. As culturas foram preparadas a partir de hipocampo de ratos neonatos (1-2 DPN). As proteínas foram separadas por eletroforese uni e bidimensional e as fosfoproteínas analisadas em filme autoradiográfico (Rodnight, 1988). A presença de 1mM de  $\text{Ca}^{2+}$  no meio de incubação resultou em decréscimo no nível de fosforilação protéica geral, em comparação à ausência de  $\text{Ca}^{2+}$  externo (1mM EGTA). Os experimentos de medida da captação de [ $^{32}\text{P}$ ]fosfato nas células (baseado no método de Glin e colaboradores, 1995), mostraram que não há diferença na disponibilidade intracelular deste composto, tanto na presença quanto na ausência de  $\text{Ca}^{2+}$  externo. O inibidor de proteínas fosfatases, Ácido Ocadáico, na concentração de 1 e 10 nM, reverteu o decréscimo de fosforilação geral observado na presença de  $\text{Ca}^{2+}$ ; entretanto, na concentração de 100nM resultou em um aumento específico de incorporação de [ $^{32}\text{P}$ ]fosfato sobre as proteínas de filamento intermediário GFAP (proteína ácida fibrilar glial) e vimentina. Estes resultados sugerem que esta diferença na incorporação de [ $^{32}\text{P}$ ]fosfato, observada na presença e ausência de  $\text{Ca}^{2+}$  externo, seja devido a diferenças no sistema de fosforilação, e não a alterações na captação de [ $^{32}\text{P}$ ]fosfato intracelular. (CNPq/PIBIC/UFRGS, PROPESQ, PRONEX).