

182

ATIVIDADE DE TIROSINA QUINASE DO RECEPTOR DE INSULINA EM BRÂNQUIAS DO CARANGUEJO *Chasmagnathus granulata*. *Márcia Trapp, Ana Lúcia F. Chittó, Edison Capp, Roselis M. S. da Silva, Luiz Carlos Kucharski* (Departamento de Fisiologia, ICBS, UFRGS).

A presença de substâncias semelhantes à insulina tem sido evidenciada em insetos, anelídeos, crustáceos e moluscos. Em trabalhos prévios foi constatado a presença de sítios de ligação à insulina nas brânquias de *Chasmagnathus granulata* e que a administração deste hormônio aumenta a concentração de glicogênio em diversos tecidos. Neste trabalho foi estudada a atividade de tirosina quinase do receptor de insulina das brânquias do caranguejo *C. granulata*. As brânquias foram homogeneizadas na presença de inibidores de fosfatase e ATPases e o receptor de insulina foi parcialmente purificado por cromatografia de afinidade. Para a autofosforilação, o receptor isolado foi incubado por 30 minutos com ou sem insulina (10^{-7} M), seguiu-se incubação por 10 minutos com $[^{32}\text{P}]\text{-ATP}$. A reação foi parada pela adição de solução de Laemmli e fervura. As amostras foram submetidas a um SDS-PAGE 10% e as bandas identificadas por autorradiograma. Para a fosforilação do substrato, o receptor isolado foi incubado como descrito acima e em seguida adicionou-se o substrato PolyGlu por 1h. A reação foi interrompida colocando-se o material incubado sobre papel de fosfocelulose. Após lavagens com ácido fosfórico, a incorporação de $[^{32}\text{P}]\text{ATP}$ foi medida em um contador beta. Os resultados demonstram que, ao se estimular o receptor isolado de brânquias com insulina houve aumento da fosforilação e ao se fornecer o substrato sintético PolyGlu houve um aumento de 1,35 vezes na fosforilação deste substrato quando estimulado com insulina. Através deste estudo pode-se evidenciar uma homologia entre a capacidade de transdução do sinal pela insulina nestes caranguejos assim como em mamíferos. (FINEP, CNPq)