

UFRGS).

Membranas sinápticas isoladas por fracionamento subcelular de homogenato de cérebro de ratos apresentam uma atividade de hidrólise para o ATP e o ADP pela ação de uma ATP difosfohidrolase (EC 3.6.1.5). A hidrólise desses nucleotídeos, por sua vez, está relacionada com funções importantes no sistema nervoso como neurotransmissão, co-transmissão e neuromodulação. Considerando que proteínas integrais de membrana formam micelas com detergentes não-iônicos, foi investigada a possibilidade de isolamento dessa enzima por separação de fases através de tratamento com Triton X-114. Com o objetivo de elucidar a localização da enzima com relação a membrana, realizou-se uma extração com esse detergente, uma vez que este dado é importante para um melhor conhecimento da sua função e possíveis interações com outros componentes da membrana. Este trabalho descreve condições experimentais para a separação com solução de Triton X-114. Membranas sinápticas foram solubilizadas a 0-4°C em uma solução de Triton X-114 1% em Tris HCl 10mM, pH 7.4, 0,15M NaCl. A seguir este material foi submetido a separação de fase a 30°C sobre um colchão de sacarose 6%. Este procedimento leva a formação de duas fases: aquosa e rica em detergente. Ambas as fases foram ensaiadas para atividade ATPásica e ADPásica bem como determinação de proteína. Os resultados obtidos por determinação quantitativa demonstraram que a atividade ATPásica e ADPásica ficam concentradas na fase detergente indicando um comportamento de proteína integral de membrana para esta enzima.(FINEP, CNPq).