

**13. CLEONI DOS SANTOS CARVALHO****Defesa de Tese: 26/09/97**

**TÍTULO: "PURIFICAÇÃO, CARACTERÍSTICAS CINÉTICAS E ISOENZIMAS DA LACTATO DESIDROGENASE (L-Lactato: NAD<sup>+</sup> oxidorredutase, E.C.1.1.1.26) DO MÚSCULO EPAXIAL DE CURIBAMTÁ, *Prochilodus scropha*, STEINDACHNER, 1881, E DE *Notothenia neglecta* (PISCES, TELEOSTEI)".**

Foi realizado estudo comparativo de purificação, propriedades cinéticas e distribuição tecidual de lactato desidrogenase (L-Lactato: NAD<sup>+</sup> oxidorredutase, E.C.1.1.1.27) de músculo epaxial de peixes, *Prochilodus scropha*, uma espécie tropical e *Notothenia neglecta*, uma espécie antártica. A purificação da LDH foi levada a efeito em cromatografia por afinidade de oxamato-agarose, tendo sido possível obter valores satisfatórios de purificação. Para o estudo cinético, a LDH foi purificada por precipitação com sulfato de amônio a 70%, centrifugada e dialisada. A LDH apresenta pH ótimo em torno de 6,5 a 7,5 e 6,6 a 7,0, para *P. scropha* e *N. neglecta*, respectivamente. A energia de ativação foi de 7.591 e 6.567 cal/mol para *P. scropha* e *N. neglecta*, respectivamente. O estudo do efeito da temperatura sobre o  $K_m$  da LDH para o piruvato foram os seguintes para LDH de *P. scropha* : 0,09mM, 0,13mM e 0,13mM de piruvato a 10°C, 20°C e 30°C, respectivamente; para LDH de *N. neglecta*: os valores de  $K_m$  em diferentes temperaturas foram: 0,24mM, 0,31mM e 0,33mM de piruvato a 10°C, 20°C e 30°C, respectivamente. O efeito do pH nos valores de  $K_m$  de ambas as preparações de LDH foram os seguintes: para LDH de *P. scropha*: 0,048mM, 0,046mM e 0,144mM de piruvato em pH 6,0, 7,0 e 8,0, respectivamente; para LDH de *N. neglecta*: os valores de  $K_m$  nos diferentes pH foram os seguintes: 0,044mM, 0,153mM e 0,277mM de piruvato em pH 6,0, 7,0 e 8,0, respectivamente; Ambas as preparações de LDH foram sensíveis quando incubadas a altas temperaturas. Incubação por 30 minutos a 50°C causou acentuada inativação da LDH de ambas as fontes. Com relação aos inibidores, o oxalato atua como inibidor não competitivo tanto para LDH de *P. scropha* como para LDH de *N. neglecta*. Por outro lado, oxamato aparenta ser inibidor incompetitivo para ambas as preparações de LDH. O APAD - 3-acetilpiridina adenina dinucleotídeo, é um potente inibidor das preparações de LDH, sendo a LDH de *N. neglecta* mais sensível do que a LDH de *P. scropha*. O perfil eletroforético de ambas as preparações mostrou, em acetato celulose, uma única faixa de proteína. Entretanto, em tampão barbital, pH 8,6, a LDH de *P. scropha* migra para o cátodo enquanto que a LDH de *N. neglecta* migra para o ânodo.