

A semente de *C. ensiformis* é fonte de várias proteínas de interesse, como a urease, a lectina concanavalina A, uma asparaginil endopeptidase e a canatoxina. Estudos mostraram que em extratos de sementes quiescentes, bem como ao longo do processo de germinação, várias enzimas proteolíticas estão presentes. Entre essas, observa-se a ocorrência de uma protease ácida que é expressa entre o 3° e o 5° de germinação, não é inibida por pepstatina A, mas é inibida por tirostatina, um inibidor de sedolisina, uma nova classe de enzimas. Esse grupo de enzimas proteolíticas foi caracterizado mais recentemente, são as serino-carboxil endopeptidases, descrita pela primeira vez em 1987 pelo Dr. Kohei Oda, Japão, que isolou de *Pseudomonas* sp. 101, e de *Xantomonas* sp. T-22, carboxi-endopeptidases ativas em pH 3.0, insensíveis à pepstatina-A. A maioria dos estudos recentes de caracterização dessas enzimas utilizou ferramentas de biologia molecular para clonagem e expressão das proteínas, e não a purificação da proteína nativa. Importante ressaltar que, até o momento, não foram descritas sedolisinas em plantas. Demartini (2007) purificou uma enzima candidata à sedolisina de sementes de *C.ensiformis* germinadas por 3-4 dias. A enzima denominada TYSE (TYrostatin-Sensitive Enzyme) apresenta 23 kDa em SDS-PAGE. A sequência N-terminal obtida, de 14 resíduos de aminoácidos, indicou algum grau de homologia com proteases. Esse trabalho tem como objetivo otimizar o protocolo de purificação da enzima nativa, visando melhorar o rendimento e obter a proteína ativa, como também determinar parâmetros cinéticos (K_m , k_{cat} para diferentes substratos, temperatura e pH ótimos, susceptibilidade a inibidores, estabilidade térmica) da enzima tirostatina-sensível e investigar sua capacidade de hidrolisar *in vitro* a urease e outros substratos protéicos. Os resultados obtidos nesse projeto permitirão ampliar o conhecimento sobre enzimas proteolíticas de origem vegetal e a compreensão da importância que essas têm no processo de germinação.