

386

**TRIPSINA DA *CANAVALLIA ENSIFORMIS*: HIDRÓLISE DE CANATOXINA E OUTRAS PROTEÍNAS.***\*Carolina B. Wagner, \*\*Renata C. S. Ramos, \*Célia R. Carlini* (\*Depto. de Biofísica, Instituto de Biociências, UFRGS; \*\* Curso de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, UNISINOS).

Uma enzima tipo tripsina foi isolada de sementes de *Canavalia ensiformis* (*C.e.*) por fracionamento com sulfato de amônio, cromatografia de troca-iônica (coluna MonoQ) e filtração em gel (Superose 12HR). A enzima, com 32 kDa, forma oligômeros ativos (trímeros) em soluções concentradas. A atividade amidolítica da enzima sobre Benzoil-L-arginina-*p*-nitroanilida (BAPNA) em tampão Tris.HCl 20mM, pH 7,4 foi monitorada em leitor de placas "Spectramax". A enzima mostrou-se ativa em ampla faixa de pH (6.0 – 11.5), com pH ótimo ~10.0 para BAPNA. Os inibidores PMSF (4mM) e Benzamidina (1 mM) inativaram a enzima. Em contraste, ovomucóide e SBTI, não afetaram sua atividade enzimática. Para estudar o papel fisiológico dessa proteína, estudos comparativos de hidrólise de proteínas da semente de *C. e.* pela enzima endógena e pela tripsina bovina foram realizados. Albumina sérica bovina (BSA), caseína, a proteína inseticida canatoxina e a principal proteína de reserva da semente, canavalina, foram incubadas com tripsina bovina ou tripsina de *C.e.*, na proporção de 1:20 em massa, pH 7.5, por 2 e 18h, a 37°C. Os produtos enzimáticos foram analisados por SDS-PAGE em gradiente (9 – 15%). Enquanto a tripsina bovina digeriu quase completamente os substratos em 2h, a hidrólise das proteínas pela enzima de *C.e.* foi pouco significativa, mesmo após 18h. A Canatoxina não foi digerida significativamente por nenhuma das enzimas. Aparentemente, a enzima isolada das sementes quiescentes de *C. e.* não está envolvida na degradação de proteínas de reserva da semente durante a germinação, podendo participar, no entanto, de outros processos metabólicos controlados por proteólise. (CNPq, PRONEX e Fapergs).