

PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM INIBIDOR DE TROMBINA DE SALIVA DE *Boophilus microplus*. Alessandra Ciprandi¹, Patrícia C. Santos¹, Carlos Termignoni^{1,2}, Jair R. Chagas⁴ and Fabiana Horn^{1,3}

(1. Centro de Biotecnologia, 2. Departamento de Bioquímica e 3. Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre; 4. Departamento de Biofísica, UNIFESP, São Paulo.)

O carrapato *Boophilus microplus* é um ectoparasita que permanece aderido ao bovino por vários dias, causando grandes perdas econômicas. Para o sucesso de sua alimentação, é necessária a presença em sua saliva de substâncias que neutralizam respostas hemostáticas por parte do hospedeiro. A saliva de *Boophilus microplus* contém pelo menos dois inibidores de trombina. O inibidor de trombina de baixo peso molecular é isolado por cromatografia de gel filtração e ultrafiltração em membrana de exclusão de 3000. Este anticoagulante é capaz de inibir a trombina na hidrólise do fibrinogênio, mas não inibe sua atividade amidásica sobre o substrato cromogênico S2238, sugerindo que o inibidor se liga ao exossítio I da trombina. Esta hipótese foi testada usando-se um substrato fluorogênico que se liga ao sítio catalítico e ao exossítio I da trombina, verificando-se que o inibidor é capaz de inibir sua hidrólise. O inibidor foi purificado por coluna de afinidade. O filtrado da ultrafiltração em membrana de exclusão de 3000 é aplicado em resina de afinidade trombina-Sepharose, pré-equilibrada em fosfato de sódio 20 mM pH 7,2 NaCl 0,15 M. A resina é lavada no mesmo tampão, e a eluição é feita com HCl 0,01 M NaCl 0,5 M, sendo a atividade anticoagulante encontrada no eluído. (Apoio financeiro: PRONEX-FINEP, PADCT)