

162

**PROTEINASES ÁCIDAS EM SEMENTES DE *Canavalia ensiformis*.** Diogo Ribeiro Demartini, Célia R. Carlini. (Departamento de Biofísica. Instituto de Biociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS).

As sementes da leguminosa *Canavalia ensiformis* são ricas em proteinases ácidas. A proposta do trabalho foi isolar enzimas tipo catepsinas, presentes nas sementes dormentes de *C. ensiformis*, que estariam relacionadas com a formação de peptídeos entomotóxicos durante a germinação. Sementes maduras foram trituradas e extraídas em NaPB 20mM pH 5.0, durante 2h a 4°C. Após centrifugação, o sobrenadante foi estocado a 4°C, pH 4.0, em presença de 0.02% azida. Ensaios de atividade proteolítica foram feitos com 0.2% Hemoglobina, pH 4.0 (para catepsina D), e 0.2% de Azocaseína, pH 5.6, na presença de 2mM de ditiotreitol (para catepsina B). Alternativamente, utilizou-se o substrato fluorogênico (Abz-AIAFFSRQ-EDDnp) para atividade enzimática em pH 4.0. Cerca de 18.5mU e 63mU, por grama de semente, de atividade hemoglobinolítica e azocaseinolítica foram detectadas no extrato bruto. Incubação com 25µM E-64 (pH 5.6), e 25µM Pepstatina-A (pH 4.0), conhecidos inibidores de catepsinas B e D, respectivamente, inibiram parcialmente (30-40%) a hidrólise de hemoglobina ou azocaseína. Cromatografia de troca iônica do extrato bruto, em CM-Celulose, pH 6.0, mostrou atividade proteolítica no material não retido (70-80% da atividade total, mostrando-se sensível à Pepst-A), bem como nas frações eluídas com 100 mM (20% da atividade total, principalmente sensível ao E-64), e 300mM NaCl (com atividade proteolítica insensível aos dois inibidores). Estes dados indicam a presença de cisteíno- e aspártico proteinase(s) nas sementes maduras de *C. ensiformis* e de uma parcela importante de atividade proteolítica ácida pertencente a outras classes de proteinases. (CNPq e PRONEX 76.97.10.70.00)