

205

PRESENÇA DE ENZIMAS SENSÍVEIS À PEPSTATINA A E E-64 EM SEMENTES DE *Canavalia ensiformis*. Demartini, D., Ferreira-da-Silva, C.T., Carlini, C. R., (Departamento de Biofísica, Instituto de Biociências, UFRGS)

Catepsinas são proteases envolvidas no “turnover” de proteínas em mamíferos, insetos, pássaros, etc. As catepsinas de tecidos vegetais são pouco conhecidas em comparação com outros sistemas. A proposta deste trabalho foi de investigar a presença de enzimas tipo catepsinas em sementes de *Canavalia ensiformis*, já que estas enzimas poderiam estar envolvidas na formação de peptídeos entomotóxicos da canatoxina, durante a germinação da semente. Sementes maduras foram finamente moídas e extraídas em 50mM NaPB, pH 6.5, 4°C, durante 2h. O homogeneizado foi incubado a 40°C, pH 4, durante 3h, como descrito por Barret, 1973. O material insolúvel no processo foi descartado e o sobrenadante foi utilizado nos ensaios enzimáticos. Peptídeos ácidos solúveis obtidos pela incubação do extrato de sementes com 0.2% de hemoglobina, pH 4, ou 0.2% de azocaseína, na presença de DTT, pH 5.6, foram detectados através de absorvância em 280 e 420nm, respectivamente. Através deste processo, 8.3mU/mg de atividade hemoglobinolítica foram detectadas por mg de proteína de semente (1mU=0.001OD por hora). A incubação do extrato bruto com 25µM de E-64 (pH 5.6), e 50µM de Pepstatina A (pH 4.0), inibidores conhecidos de enzimas tipo catepsinas B e D, respectivamente, inibiram parcialmente (30-40%) a hidrólise da hemoglobina e da azocaseína, respectivamente. Cerca de 60-70% da atividade hidrolítica sobre os substratos persistiram após a incubação com os dois inibidores. Os dados indicam a presença de cisteíno- e aspártico-proteínases, bem como um outro tipo de atividade proteolítica ácida ainda não conhecida nas sementes maduras de *Canavalia ensiformis*. Suporte: CNPq, FINEP-BID, PRONEX 76.97.10.700.00