

166

**UMA ENZIMA TIPO-TRIPSINA PROVENIENTE DE *Canavalia ensiformis*.** \*Wagner, CB; \*\*Ramos, RCS e \*Carlini, CR. (\*Depto. Biofísica, Instituto de Biociências, UFRGS, \*\* Depto. de Educação Física e Saúde, UNISC).

Enzimas proteolíticas de sementes estão relacionadas com a degradação de proteínas durante o processo de germinação. O objetivo deste trabalho foi isolamento e a caracterização cinética de uma enzima do tipo tripsina existente nas sementes de *Canavalia ensiformis*. Após extração a partir da farinha das sementes, a enzima foi purificada por precipitação com sulfato de amônio (35-55%) e cromatografia de troca iônica convencional DEAE-celulose pH 7.5 (eluição step-wise), seguida de cromatografia de alta performance em coluna MonoQ – FPLC com eluição com gradiente de NaCl (0.15-0.5M). A atividade enzimática foi monitorada por hidrólise de N- $\alpha$ -benzoyl-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) em tampão Tris.HCl (20mM) pH 7.5; usando ensaio otimizado em placas de ELISA com leituras a cada 5 minutos no aparelho SpectraMAX equipado com software para estudos cinéticos. Todos os ensaios foram feitos comparando a atividade da enzima vegetal com tripsina bovina comercial. A tripsina de *Canavalia ensiformis* caracteriza-se por sua inibição em presença de PMSF (4mM) e Benzamidina, ambos inibidores específicos para serino-proteinases, e pelo seu pH ótimo de ~10,0, bem mais elevado do que a enzima de referência em mamíferos. Em SDS-PAGE a 10%, a enzima apresentou um peso molecular de ca. 35KDa. A continuidade destes estudos posteriores visam identificar a atuação desta enzima tipo tripsina no crescimento da plântula e a participação na hidrólise da canatoxina e das proteínas relacionadas a esta. Apoio: CNPq ; PRONEX 76.97.10.70.00.