

PROTEASES ÁCIDAS EM SEMENTES DE *CANAVALIA ENSIFORMIS*. MOBILIZAÇÃO DA CANATOXINA E OUTRAS PROTEÍNAS DURANTE A GERMINAÇÃO. Diogo R. Demartini, Lara Pias, Célia Carlini (Depto de Biofísica, I.B, UFRGS).

As sementes de *Canavalia ensiformis* são fonte de uma proteína inseticida, a canatoxina. Neste estudo, investigamos a mobilização da canatoxina e formação de seus peptídeos entomotóxicos durante a germinação, por proteases ácidas da semente. A germinação foi feita a 25°C, 75% umidade relativa. Após a liofilização, o material germinado foi extraído em tampão NaPB 10mM pH 6.0 (10% p/v). A atividade proteolítica dos extratos brutos de sementes quiescentes e germinadas por 3, 24, 96 e 168h foi ensaiada em pH 4.0 sobre o substrato fluorogênico Abz-AIAFFSQR-EDDNp (20µM), investigando-se o efeito dos inibidores enzimáticos pepstatina-A (5µM), E-64 (20µM) e PMSF (5mM). O conteúdo total de proteína (A₂₈₀) dos extratos das sementes germinadas decresce a partir de 96h, quando ocorre um aumento significativo de atividade proteolítica sobre o substrato fluorogênico. A pepstatina-A inibe 80% da atividade proteolítica total (até 24h de germinação), indicando prevalência de enzimas tipo catepsina-D, nesse período. Após 96h de germinação, a atividade proteolítica não é mais inibida por quaisquer inibidores citados. Os extratos foram analisados por dot blot e Western blot, usando anticorpos policlonais anti-canatoxina. Observou-se que a canatoxina é preservada até 96h de germinação. Estes resultados sugerem que a canatoxina sofre uma mobilização diferenciada, em relação às demais proteínas, provavelmente por estar protegida das proteases, por compartimentalização celular, durante estes estágios da germinação. (CNPq, Fapergs e PRONEX).