

369

**IDENTIFICAÇÃO DE UM INIBIDOR DE TRIPSINA EM OVOS DE RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS.** *Juliana Casagrande Ceolato, Adriana Seixas, Carlos Termignoni (orient.) (UFRGS).*

Infestações pelo carrapato *R. (Boophilus) microplus* causam ao hospedeiro bovino perdas de sangue capazes de influenciar diretamente no seu estado nutricional, além de transmitir os agentes causadores da tristeza parasitária bovina, causando um grande prejuízo econômico à pecuária. Em 2003, Seixas et al. isolaram uma cisteína endopeptidase denominada VTDCE. O preparado desta enzima apresentou dois picos proteicos após separação em coluna de fase reversa, a seqüência amino-terminal de um deles possui 88% de homologia com a carrapatina, molécula descrita como inibidor de tripsina presente em *R. microplus* (Andreotti et al. 2001). No presente trabalho, confirmamos a presença de um inibidor de tripsina em ovos de *R. microplus* e estudamos sua correlação com a VTDCE. A enzima VTDCE e a atividade inibitória coeluem em cromatografias de troca iônica (coluna Mono Q), em pH ácido e neutro, e em cromatografia de gel filtração (coluna Superdex 75). Uma propriedade da VTDCE é sua alta afinidade com vitelina (VT), sendo dissociada apenas por autólise. Verificamos que após o processo de autólise, tanto a atividade enzimática como a inibitória aumentam, sugerindo que o inibidor se dissocia da VT, juntamente com a enzima. Esse inibidor apresenta  $K_i$  de 5 nM para tripsina e mantém sua atividade mesmo após fervura. A atividade inibitória de tripsina foi também confirmada pela técnica de zimograma reverso. Esse inibidor não foi capaz de inibir a atividade tipo catepsina L da VTDCE em pH ácido. Pretendemos determinar seqüências internas da molécula para confirmar se a atividade inibitória em estudo pertence a carrapatina. O trabalho prossegue no sentido de compreender o papel desse inibidor em ovos de *R. microplus* e determinar a razão desta aparente associação do inibidor com VTDCE.