

## Sessão 35

### Bioquímica C

**310**

**PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM INIBIDOR DE TROMBINA PRESENTE NO INTESTINO DE BOOPHILUS MICROPLUS.** *Clarisse Gravina Ricci, Carlos Termignoni (orient.)* (UFRGS).

Introdução: Ao mesmo tempo que a hemostasia nos mamíferos se desenvolveu como três processos interconectados (vasoconstrição, agregação plaquetária e cascata de coagulação), os animais hematófagos desenvolveram uma gama de moléculas capazes de interferir nesses processos. Apesar da grande diversidade desses agentes anticoagulantes e de seus mecanismos, a trombina é um alvo freqüente desses inibidores, devido ao seu papel central que tem no processo hemostático. O carrapato *Boophilus microplus*, um ectoparasita de bovinos capaz de se alimentar ininterruptamente no seu hospedeiro por vários dias, dispõe de vários agentes anticoagulantes. Efetivamente, em 2000, foi identificado pelo nosso grupo de pesquisa um inibidor de trombina de 60 kDa na saliva de *B. microplus*. O trabalho agora apresentado tem como objetivo a purificação e caracterização de um novo inibidor de trombina presente no intestino de *Boophilus microplus*. Métodos: Extrato de intestinos isolados de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *B. microplus* foi testado em fibrinocoagulação e coagulação por tempo de recalcificação, apresentando atividade anticoagulante em ambos ensaios. O inibidor foi parcialmente purificado em cromatografia de gel filtração e cromatografia de afinidade por trombina, resultando em um fator de purificação de 271 vezes. O inibidor parcialmente purificado mostrou-se capaz de inibir agregação plaquetária induzida por trombina, porém não inibe a atividade amidolítica da trombina sobre substrato cromogênico S2238. O inibidor possui uma massa molecular de 28 kDa, estimada em SDS-PAGE. Perspectivas: Etapas cromatográficas adicionais estão sendo testadas a fim de obter o inibidor de trombina de *B. microplus* em estado homogêneo. Efeitos inibitórios estão sendo testados em outras enzimas, incluindo fatores da coagulação como fator X em protrombina. (PIBIC).