

252

**CISTEÍNO-ENDOPEPTIDASE DE LARVAS DE BOOPHILUS MICROPLUS: PURIFICAÇÃO E INVESTIGAÇÃO DO PAPEL FISIOLÓGICO.** *Andreia Bergamo Estrela, Carlos Termignoni (orient.)* (UFRGS).

O carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) é um ectoparasita hematófago cujo ciclo de vida apresenta uma fase de vida livre, que compreende o desenvolvimento dos ovos, eclosão, e desenvolvimento das larvas, e uma fase de vida parasitária em um único hospedeiro. Como muitos artrópodes ovíparos, para completar seu desenvolvimento embrionário, este parasita depende de substâncias de reserva presentes no vitelo, principalmente vitelina (Vt), que continua presente no estágio larval. Uma cisteíno-endopeptidase de larvas de *B. microplus* com atividade sobre vitelina foi parcialmente purificada e caracterizada (Estrela, A., XIV SIC, 2002). No presente trabalho visamos estabelecer um protocolo de purificação mais eficiente para esta enzima e caracterizar a preparação obtida, utilizando-se ensaios enzimáticos, eletroforese em gel de poliacrilamida e imunodeteção. Também foram investigados aspectos bioquímicos do desenvolvimento de larvas não alimentadas. O novo protocolo de purificação, baseado em técnicas cromatográficas, resultou em uma preparação contendo uma proteína majoritária de 45 kDa (rendimento de 48% e fator de purificação de 194). Sobre substratos sintéticos, a enzima purificada apresentou atividade ótima à temperatura de 42°C e pH 5,5 e é instável em pH acima de 7,5. A atividade proteolítica sobre vitelina foi confirmada. Experimentos com extratos de larvas de diferentes idades indicaram aumento da atividade proteolítica, acompanhado de uma diminuição no conteúdo de proteína total e de vitelina, conforme as larvas se desenvolvem. Estes resultados são compatíveis com a participação desta enzima na digestão de vitelina em larvas não alimentadas de *B. microplus*, suprindo suas necessidades nutricionais no período que antecede a alimentação hematófaga. (PIBIC).