

PURIFICAÇÃO, PROPRIEDADES INIBITÓRIAS E SEQUÊNCIA NH₂ TERMINAL DE UM NOVO INIBIDOR DE TRIPSINA DE SEMENTES DE *Koelreuteria paniculata*

Fábio Henrique R. Fagundes (Bolsista SAE/UNICAMP), Profa. Dra. Maria Lígia R. Macedo (Co-orientadora) e Prof. Dr. Sérgio Marangoni (Orientador), Instituto de Biologia - IB, UNICAMP

As proteinases estão envolvidas em muitos processos fisiológicos (ex. digestão, coagulação sanguínea, agregação plaquetária) onde o controle pode ser feito pela ação de inibidores de proteases. Dentre aqueles encontrados em plantas, são os pertencentes às famílias de Kunitz e Bowman-Birk os mais estudados. Este trabalho descreve a purificação, caracterização e determinação da estrutura primária parcial de um novo inibidor de tripsina presente em sementes de *K. paniculata* (família Sapindaceae). O extrato bruto foi obtido da farinha de sementes com tampão fosfato 0,1M, pH 7,6 (1:10, w/v) por 1 h, 25°C e subsequente centrifugação. O inibidor de tripsina (KPTI) foi purificado por cromatografias (Sephadex G-100, Sepharose-Tripsina e Fase Reversa HPLC/ μ Bondapak-C₁₈). A eletroforese em PAGE-SDS de KPTI mostrou uma cadeia polipeptídica homogênea de 16 kDa; e após redução com DTT, duas cadeias polipeptídicas de 10 e 6 kDa. Estudos estequiométricos mostram que KPTI inibiu a tripsina (K_i 34.5×10^{-8} M) na razão molar de 2:1, sendo a massa molecular do complexo de 65 kDa (gel filtração-Superdex G75-FPLC). KPTI não apresentou atividade inibitória contra quimotripsina, papaína, α -amilase, plasmina, elastase pancreática porcina, calicreína plasmática porcina e humana. A seqüência NH₂-terminal (40 aminoácidos) mostrou homologia com outros inibidores da família Bowman-Birk.

K. paniculata - Inibidor de Tripsina - Bowman-Birk