



## SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2016
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Comparação da atividade entomotóxica dos peptídeos recombinantes derivados das ureases de <i>Canavalia ensiformis</i> e <i>Glycine max</i>
<b>Autor</b>	CAMILA KEHL DIAS
<b>Orientador</b>	CELIA REGINA RIBEIRO DA SILVA CARLINI

**Título:** Comparação da atividade entomotóxica dos peptídeos recombinantes derivados das ureases de *Canavalia ensiformis* e *Glycine max*.

**Autora:** Camila Kehl Dias

**Orientadora:** Célia Regina Ribeiro da Silva Carlini

**Instituição de origem:** UFRGS

**Resumo:** Ureases são metaloenzimas níquel-dependentes que catalisam a hidrólise de ureia a amônia e gás carbônico. São proteínas *moonlighting*, enzimas multifuncionais que apresentam domínios de atividade independentes. Sua presença está relacionada à disponibilidade de nitrogênio e a mecanismos de defesa em plantas. Ureases de *Canavalia ensiformis* (JBU, JBURE-II e Canatoxina) apresentam propriedades entomotóxicas. Tal toxicidade é dependente da liberação de um peptídeo interno de aproximadamente 10 kDa, mediante hidrólise por enzimas tipo-catepsina do sistema digestório de insetos susceptíveis. Um peptídeo recombinante derivado da isoformas JBURE-II, denominado Jaburetox, foi clonado e expresso em *Escherichia coli*. A atividade entomotóxica do peptídeo Jaburetox foi comprovada contra hemípteros (*Rhodnius prolixus*, *Oncopeltus fasciatus* e *Dysdercus peruvianus*) e lepidópteros (*Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa armigera*). O Jaburetox também apresenta ação contra fungos fitopatogênicos e de importância médica. Um peptídeo equivalente ao Jaburetox foi clonado e expresso em *E. coli*, tendo como molde a sequência da urease ubíqua de soja (*Glycine max*), denominado Soyuretox. Apresentando 72% de identidade com o Jaburetox e atividade antifúngica contra as leveduras *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *Saccharomyces cerevisiae* e contra os fungos filamentosos *Penicillium herquei* e *Curvularia lunata*. Quando superexpresso em plantas de soja, Soyuretox reduziu os danos causados pelo nematoide *Meloidogyne javanica*. Neste contexto, o objetivo do trabalho é a otimização das condições de expressão do Soyuretox, e comparação da entomotoxicidade dos peptídeos recombinantes Jaburetox e Soyuretox, derivados de ureases. **Métodos:** Um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com onze condições experimentais e três repetições de ponto central foi realizado considerando como variáveis a concentração do indutor IPTG (Isopropil β-D-1-tio galactopiranosídeo) e a temperatura, na expressão de Soyuretox. As concentrações de IPTG aplicadas variaram de 0,1 mM a 1 mM, e as temperaturas de 18 °C a 37 °C. O efeito das variáveis sobre o rendimento de Soyuretox foi avaliado por meio da quantificação das bandas de expressão de Soyuretox em SDS-PAGE (utilizando o *software* GelQuantNET). Bioensaios de ingestão e injeção com o inseto machador do algodão *D. peruvianus* foram realizados para avaliar a entomoxicidade dos peptídeos derivados de ureases. Fazem parte do projeto dois tipos de bioensaios: ensaio de injeção na hemocele dos insetos dos peptídeos Soyuretox ou Jaburetox, ambos em tampão NaPB 50 mM; ensaio de ingestão forçada, através da introdução da probóscida dos insetos em capilares de vidro contendo soluções de Soyuretox ou Jaburetox em tampão NaPB 50 mM. Os grupos experimentais e controles são compostos por cinco insetos cada e a mortalidade em cada ensaio é controlada após 24, 48, 72 e 96 horas. **Resultados:** A partir dos resultados obtidos da quantificação das bandas de expressão, os dados foram tratados estatisticamente (utilizando o *software* Statistica 8.0). Obtendo uma correlação estatisticamente significativa entre a temperatura e concentração de IPTG na expressão de Soyuretox, uma Superfície de Resposta foi desenvolvida, que indica as regiões de ótimo de expressão. **Conclusão:** A Superfície de Resposta do planejamento experimental obtida indica que a região de ótimo de expressão de Soyuretox converge para os valores de menores temperaturas (18°C) e menores concentrações de IPTG (0,1 mM). Os bioensaios de ingestão e de injeção de Jaburetox ou de Soyuretox com *D. peruvianus* estão em andamento. Após, os dados de mortalidade serão tratados estatisticamente de modo a determinar a entomotoxicidade do peptídeo recombinante Soyuretox e compará-la a do Jaburetox.