

Ureasas (E.C. 3.5.1.5) são níquel-enzimas envolvidas na biodisponibilidade de nitrogênio e em mecanismos de defesa contra predadores e patógenos em plantas. Nosso grupo descreveu a atividade inseticida da Canatoxina, uma isoforma da urease de *Canavalia ensiformis*. Essa toxicidade depende da liberação de um peptídeo de 10 kDa (pepcanatox) liberado pela hidrólise da proteína por enzimas digestivas do tipo-catepsinas dos insetos suscetíveis. Baseado na sequência N-terminal do pepcanatox, um fragmento de 270 pb correspondente ao pepcanatox (jaburetox-2Ec) foi clonado e expresso em *Escherichia coli*. Este peptídeo Jaburetox-2Ec (com epítipo V5 e cauda de histidina) foi testado contra insetos e causou 100% de mortalidade em modelos como *Dysdercus peruvianus*, *Rhodnius prolixus*, *Blatella germânica* e *Spodoptera frugiperda* após a ingestão de microgramas do peptídeo. A fim de retirar o epítipo V5 (proveniente do vetor) da sequência do peptídeo, a sequência de DNA do jaburetox-2Ec foi reamplificado por PCR, clonado em plasmídeo pET23a, obtendo-se o peptídeo jaburetox apenas com cauda de histidina (Jaburetox-V5).

Adicionalmente, estamos estudando a estabilidade dos dois peptídeos recombinantes. Para isto, os peptídeos foram expressos em *E. coli*, induzidos com IPTG 0,5 mM por 2 horas. Após purificação em coluna de afinidade a níquel, soluções dos peptídeos foram preparadas variando tampões e pHs, e condições de armazenamento, à 4°C e -20 °C. As análises estão realizadas semanalmente por análise em SDS-PAGE a 15%.

Autores: Karine Kappaun, Anne Helene S. Martinelli, Giancarlo Pasquali, Célia R. Carlini

Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, FAPERGS e FINEP.