

ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE DUAS UREASES EXTRAÍDAS DE *Canavalia ensiformis*. Wassermann, G. E., Follmer, C. Carlini, C.R.- (Laboratório de Proteínas Tóxicas- Dep. de Biofísica – ICBS-UFRGS).

A urease da *Canavalia ensiformis* é uma proteína de importância histórica, tendo sido a primeira enzima a ser cristalizada. A descoberta de outra urease (Canatoxina) na *Canavalia ensiformis* em 1981, por Carlini, Guimarães abriu uma série de indagações do que se conhece sobre as ureases. A Canatoxina é um dímero, (monômero de ~95 kDa), com atividade ureásica significativamente inferior a urease, capaz de ativar plaquetas e tóxica por via intraperitoneal em camundongos. A Canatoxina também possui atividade entomotóxica, sugerindo o seu envolvimento na defesa da semente diante de patógenos. Este trabalho apresenta um método de purificação da Canatoxina e da urease a partir da mesma semente, utilizando a cromatografia de afinidade por metal para separação das duas isoformas. A canatoxina apresenta uma afinidade por metal superior a urease, indicando que apesar da identidade de sequência (> 80%) destas proteínas, há uma distribuição diferencial de resíduos de histidina e triptofano em suas superfícies. A atividade tóxica de ambas proteínas não apresenta relação direta com a atividade ureásica, comprovado pelo uso de inibidores irreversíveis da atividade ureásica. Comparou-se o conteúdo de metais das duas isoformas utilizando-se o método nuclear de emissão de raio-X induzida por partículas. A Canatoxina apresentou um alto conteúdo de metal ligado à proteína, onde destaca-se a presença predominante de zinco, além de níquel, ferro, cobre. A literatura relata que a urease clássica possui basicamente níquel em sua estrutura. Esses resultados permitem concluir que: a) a *Canavalia ensiformis* apresenta pelo menos duas isoformas de ureases, a canatoxina e a urease, que podem ser distinguidas por suas diferentes atividades enzimáticas sobre a uréia, conteúdo e afinidade por metais; b) para ambas as proteínas, há uma dissociação entre a atividade enzimática e as outras atividades biológicas.(FAPERGS, CNPq, PRONEX).