

Ureases (E.C. 3.5.1.5) são metaloenzimas dependentes de níquel, que estão 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 ensiformes*. Essa toxicidade depende da liberação de um peptídeo interno de 10 kDa (pepcanatox) liberado pela hidrólise da proteína por catepsinas encontradas no sistema digestivo de 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*. O peptídeo recombinante Jaburetox-2Ec (carregando cauda V5 e cauda His) foi testado contra o inseto manchador de algodão *Dysdercus peruvianus*, *Rhodnius prolixus*, barata *Blattella germanica* e *Spodoptera frugiperda* e 100% de mortalidade foi observado em todos os modelos testados após a ingestão de microgramas do peptídeo. Estudos de modelagem do peptídeo revelaram a presença de um alça, que pode estar envolvida nesta toxicidade. A fim de estudar os motivos envolvidos nesta toxicidade, ensaio de mutagênese dirigida foi escolhido para este estudo. Para isto, sequência de DNA do jaburetox foi reamplificado por PCR, clonado em plasmídeo pET23a, obtendo a expressão do jaburetox contendo apenas cauda de histidina (Jaburetox-2Ec -V5). O peptídeo recombinante foi analisado por SDS-PAGE e Western-blot. Foi realizado bioensaio contra o inseto *Oncopeltus fasciatus*, em que 20µg do peptídeo foi injetado na hemolinfa e obteve-se mais de 50% de mortalidade após 72 horas de ensaio. O próximo passo será realizar mutagênese, sítio-dirigida, trocando os aminoácidos Lys, Asp e Glu por alanina.