

087

UREASE DE GOSSYPIUM HIRSUTUM: PURIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO CINÉTICA E EFEITOS BIOLÓGICOS. *Angela Menegassi, German Enrique Wassermann, Deiber Olivera-Severo, Celia Regina Ribeiro da Silva Carlini (orient.)* (UFRGS).

Ureases (EC 3.5.1.5) são metaloenzimas níquel-dependentes encontradas em fungos, bactérias e plantas. As ureases de *Canavalia ensiformis* e *Glycine max* apresentam atividade inseticida, sugerindo papel na defesa da planta, sendo que o *Dysdercus peruvianus*, praga da cultura de algodão, é altamente suscetível aos efeitos dessas ureases. Nossos objetivos são purificar e caracterizar uma urease de sementes de *Gossypium hirsutum* (algodão, Malvaceae), avaliando suas atividades biológicas. O protocolo de purificação da urease de *G. hirsutum* (GHU) consistiu em precipitação com sulfato de amônio, cromatografia de troca iônica em Q-Sepharose (20 mM NaPB, 5 mM β -mercaptoetanol, 1 mM EDTA, pH 7, 0) e em Source-15Q (pH 7, 5) e gel-filtração em coluna Superose-12 (pH 7, 5). A GHU foi analisada por eletroforese SDS-PAGE (10%) e Western Blot com anticorpos anti-urease (diluição 1:5000). Foram estabelecidos K_m 0, 14 mM, $V_{m\acute{a}x}$ 0, 45 U/A₂₈₀ e pH ótimo 8, 0. A suscetibilidade a inibidores indicou $IC_{50}=2,4$ μ M para o p-hidroximercurobenzoato e $IC_{50}=6,2$ μ M para o ácido acetohidroxâmico. Em presença da GHU (10 e 20 mg) o crescimento dos fungos *Colletotrichum musae*, *Curvularia lunata* e *Penicillium herguei* foi inibido ($P<0,001$). A massa molecular determinada por SDS-PAGE da subunidade de GHU foi 95KDa. A GHU compartilha determinantes antigênicos com a canatoxina e apresenta potente atividade antifúngica. Esta é a primeira descrição de urease em sementes de Malváceas. Estes resultados são importantes para estudos comparativos de ureases vegetais e para auxiliar na compreensão de suas funções fisiológicas e potencial biotecnológico. (PIBIC).