

346

UREASE DE GOSSYPIUM HIRSUTUM: PURIFICAÇÃO PARCIAL E CARACTERIZAÇÃO CINÉTICA. *Carolina Ribeiro Alves, Deiber Olivera-Severo, German Enrique Wassermann, Celia Regina Ribeiro da Silva Carlini (orient.)* (UNISINOS).

Ureases são metalo-enzimas que catalizam a hidrólise de uréia. Essas enzimas estão presentes em bactérias, fungos e plantas, principalmente em sementes de leguminosas. Sua função em plantas ainda não foi totalmente elucidada. O algodão, *Gossypium hirsutum*, da família Malvaceae, é o produto agrícola que recebe a maior carga mundial de pesticidas químicos. Rico em fibras, o seu principal subproduto é o óleo, usado na indústria alimentícia e farmacêutica. Visando purificar urease(s) a partir de sementes de algodão, o extrato bruto de sementes (10g%) foi submetido a precipitação com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ em dois cortes, a 40% e depois a 70% de saturação do sal. A fração enriquecida em urease, obtida entre 40-70% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, foi submetida a cromatografia de troca iônica em DEAE-celulose, equilibrada em NaPB 20mM, β -marcaptoetanol 5mM e EDTA 1mM, pH 7.5; a eluição foi feita com um gradiente descontínuo de NaCl adicionado ao tampão, nas concentrações 100, 200, 300, e 500 mM. A atividade ureásica concentrou-se na fração eluída com 200mM de NaCl. Obteve-se até essa etapa, resultados de parâmetros cinéticos com valores de K_m igual a 6.2 mM Uréia, e V_{max} igual a 1.5 mU A_{280}^{-1} , com um ótimo pH de 7.0, semelhante a outras ureases vegetais. Para medida da atividade ureolítica em todas as etapas desse estudo, a amônia liberada foi determinada colorimetricamente. A concentração de urease(s) presente em *G. hirsutum* não são deterrentes para o inseto *Dysdercus peruvianus*, que é um predador dessas sementes. A obtenção da proteína purificada e de eventuais isoformas possibilitará estudos comparativos com outras ureases vegetais que são inseticidas para esse inseto, como a de soja e a do feijão-de-porco.