

Ureasas (E.C. 3.5.1.5) são metaloenzimas que catalisam a hidrólise da uréia em amônia e dióxido de carbono e acredita-se estarem envolvidas em mecanismos de defesa em plantas. Nosso grupo descreveu a atividade inseticida da Canatoxina, uma isoforma da urease de *Canavalia ensiformis*, sendo dependente da liberação de um peptídeo interno de 10 kDa (pepcanatox) por hidrólise da proteína por catepsinas do sistema digestivo de insetos suscetíveis. 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 alguns insetos como o *Dysdercus peruvianus*, e 100% de mortalidade foi observada. Estudos de modelagem do peptídeo revelaram a presença de um grampo α , que pode estar envolvido nesta toxicidade. Para testar essa hipótese, a técnica de mutagênese dirigida foi escolhida para este estudo. Para isto, a sequência de DNA do jaburetox foi reamplificado por PCR, clonado em plasmídeo pET23a e expresso em *E. coli* BL21(DE3), sem a presença do epitopo V5. O peptídeo recombinante (Jaburetox-V5) foi purificado e analisado por SDS- PAGE e Western-blot. A partir do Jaburetox-V5 diferentes versões foram geradas por mutagênese sítio-dirigida, com substituições por Ala em diferentes combinações dos aminoácidos Lys, Glu, Asp no grampo α e na região N-terminal do peptídeo. As mutações foram confirmadas por sequenciamento e os diferentes peptídeos foram expressos em *E. coli*. Após purificação foram realizados ensaios de secreção de Túbulos de Malpighi, permeabilização de lipossomas e letalidade em insetos modelo. Os resultados sugerem que a região do grampo α não é determinante da atividade entomotóxica do jaburetox-2Ec.