

089

CARACTERIZAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE PROTEINASES DIGESTIVAS DE ONCOPELTUS FASCIATUS (HEMIPTERA: LYGAEIDAE). Marina Schumacher Defferrari, Juliana de Marco Salvadori, Celia Regina Ribeiro da Silva Carlini (orient.) (UFRGS).

A semente de *Canavalia ensiformis*, uma leguminosa altamente resistente ao ataque de insetos, produz isoformas de urease, incluindo a canatoxina, que são proteínas com atividade entomotóxica. Esta toxicidade seria dependente da ativação proteolítica das ureases por proteinases digestivas, tipo catepsinas, do inseto e formação de fragmentos entomotóxicos. Insetos das ordens Hemiptera e Coleoptera são utilizados como modelos para estudos de toxicidade destas proteínas. Desta forma, o objetivo deste trabalho é purificar e identificar as principais proteinases digestivas do hemíptero *Oncopeltus fasciatus*, contribuindo para o esclarecimento do mecanismo de ação inseticida das toxinas. Ninfas de quarto instar foram dissecadas para a obtenção dos intestinos e preparo de um homogeneizado, a partir do qual foram realizados ensaios de atividade proteolítica utilizando-se substratos protéicos azocaseína e hemoglobina, com pH ótimo em 4,0. A atividade foi majoritariamente bloqueada por Pepstatina-A e E-64, inibidores específicos de aspártico e cisteíno-proteinases, respectivamente. O extrato foi submetido à cromatografia de troca iônica em pH 5,0, com gradiente descontínuo de NaCl. As frações da cromatografia foram avaliadas por SDS-PAGE e mostraram diferenças nas atividades enzimáticas de interesse, testadas sobre substrato fluorogênico. Paralelamente estão sendo desenvolvidos ensaios biológicos com ninfas e adultos de *O. fasciatus* para avaliação da toxicidade das ureases de *C. ensiformis* e de peptídeos derivados. A presença de catepsinas aspárticas e cisteínicas no sistema digestório do inseto sugere que este também poderá ser suscetível à urease e peptídeos derivados, revelando-se um bom modelo em potencial para estudos dos mecanismos de ação tóxica. (BIC).