



AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CITOTÓXICOS E GENOTÓXICOS DA UREASE DE *CANAVALIA ENSIFORMIS* E DO PEPTÍDEO RECOMBINANTE JABURETOX EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS

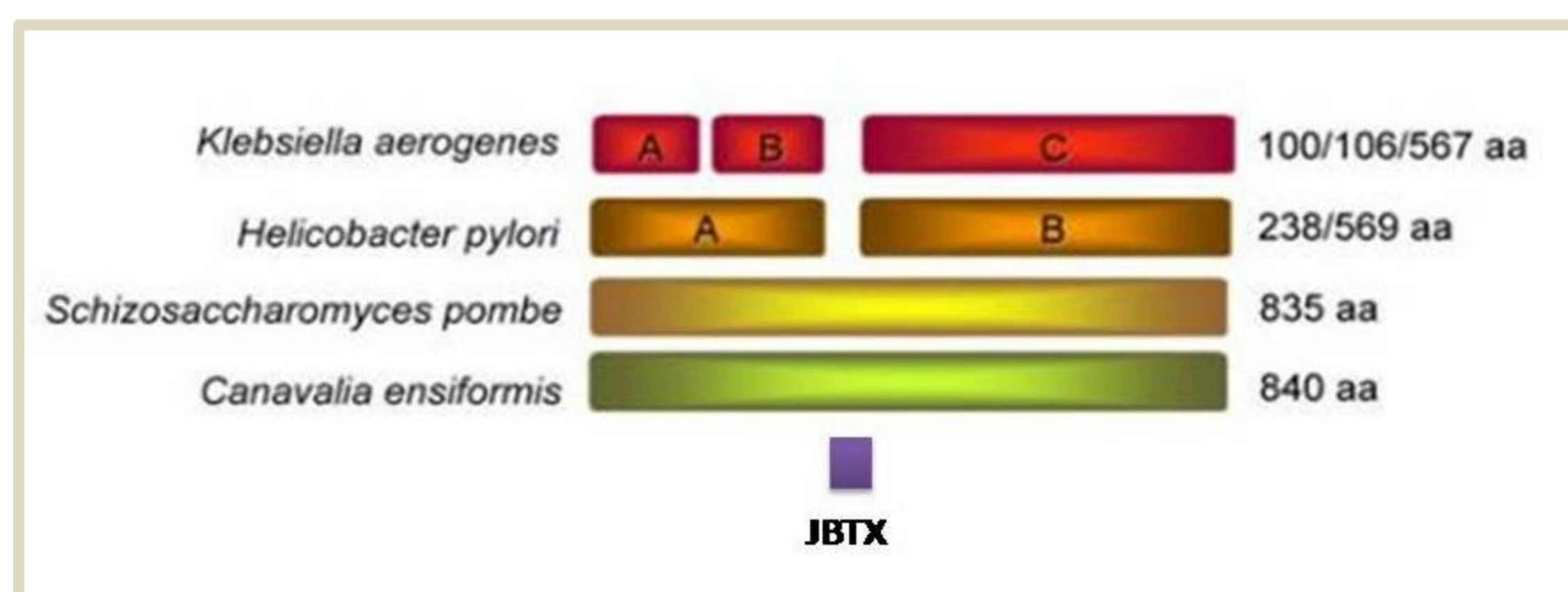
Camila Saretta Portugal¹; Célia Regina Carlini^{2;3}; Arlete Beatriz Becker-Ritt¹

¹Laboratório de Proteínas e Peptídeos Bioativos, ULBRA, Canoas, RS, Brasil

²Laboratório de Proteínas Tóxicas – LAPROTOX, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil

³InsCer – PUCRS, Porto Alegre, RS, Brasil

As ureases são metalo-enzimas níquel dependentes que catalisam a hidrólise da uréia para formar amônia e ácido carbônico. As mesmas têm sido isoladas de uma grande variedade de organismos incluindo bactérias, fungos e plantas, mas até o momento não foram encontradas em animais. A urease permite que bactérias e fungos utilizem uréia como fonte de nitrogênio, possibilita a sobrevivência desses microorganismos em ambientes ácidos, facilita a disponibilização de nitrogênio para embriões de plantas em desenvolvimento e, contribuem para o arsenal de defesa.



Organização estrutural das Ureases.

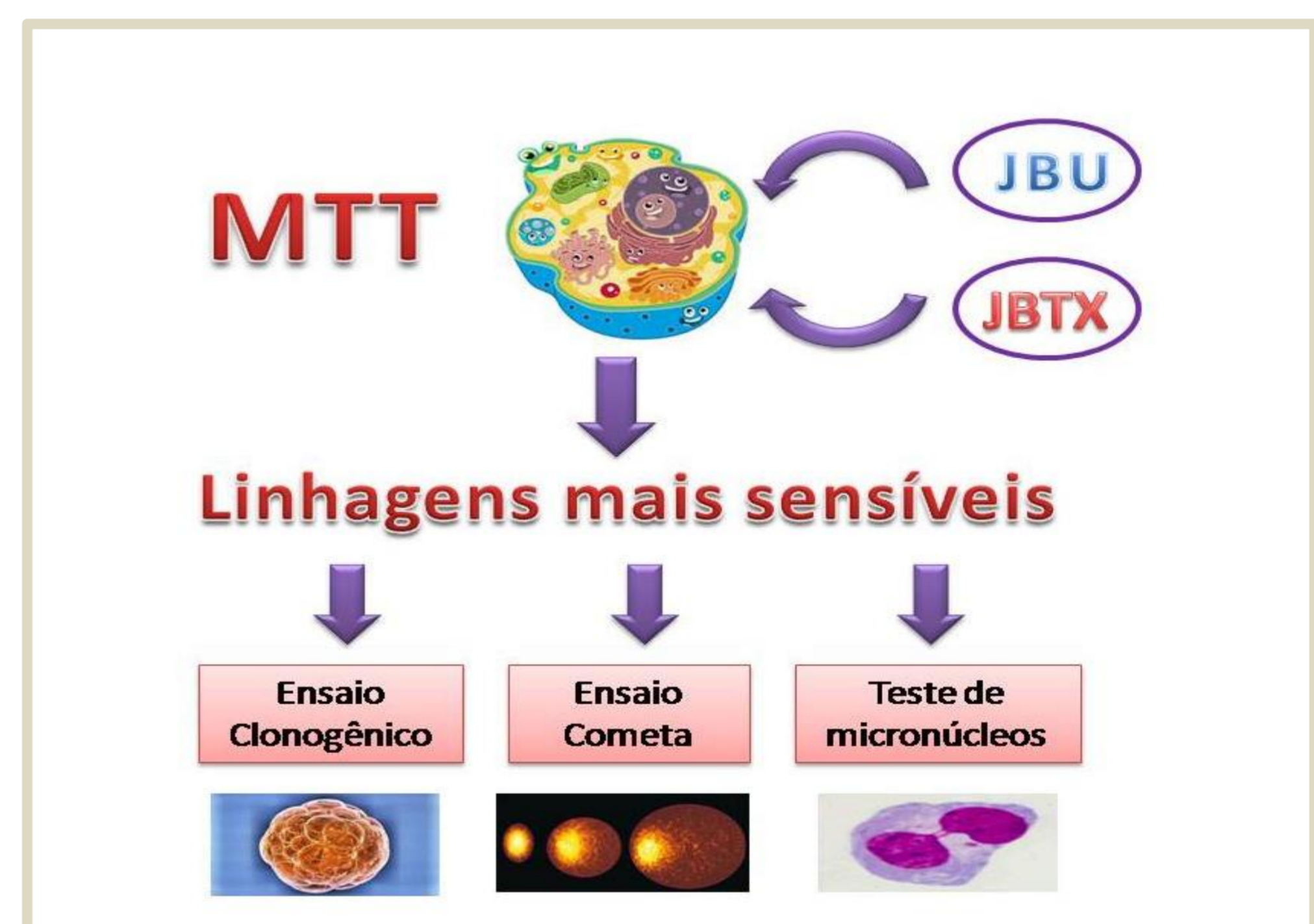
A leguminosa *Canavalia ensiformis*, também conhecida como feijão-de-porco possui três isoformas de ureases conhecidas até o momento, a Jack Bean Urease (JBU); a *jbure-II*, o qual teve seu cDNA expresso em *Escherichia coli* para a produção do peptídeo recombinante jaburetox (JBUTX) e a canatoxina (CNTX). Estudos demonstraram que as ureases de *C. ensiformis* possuem propriedades biológicas independentes da atividade enzimática, incluindo atividade inseticida e antifúngica, efeito secretório e ativação de plaquetas, efeito pró-inflamatório, ativação da via dos eicosanóides, formação de poros e atividade de canal iônico.



Canavalia ensiformis ou feijão-de-porco.

Pretende-se com este trabalho avaliar o efeito da urease JBU de *C. ensiformis*, bem como do peptídeo Jaburetox (JBUTX) em linhagens de células tumorais e investigar os efeitos citotóxicos e genotóxicos. Serão utilizadas linhagens celulares derivadas de adenocarcinoma de mama humano, carcinoma de ovário humano, adenocarcinoma de cólon humano, glioblastoma humano, câncer de pulmão humano e fibroblasto murino.

Para a avaliação da citotoxicidade serão realizados os ensaios MTT (dimetil tiazoldifenil tetrazolium), para estimativa de proliferação e sobrevivência celular, e o ensaio de sobrevivência clonogênica, que estima a sobrevivência de células *in vitro* com base na capacidade de uma única célula crescer e formar colônia. A determinação da genotoxicidade será realizada através do ensaio cometa, o qual detecta danos no DNA que são passíveis de correção, como quebras, excisão e ligações cruzadas; e do teste de micronúcleos que avalia indiretamente quebras cromossômicas permanentes e perda cromossomal.



Fluxograma dos ensaios.

Sendo as ureases enzimas de interesse bioquímico e biotecnológico e, considerando seus efeitos tanto no contexto farmacológico quanto toxicológico, é pertinente a investigação dos possíveis efeitos destas proteínas em linhagens de células tumorais e não tumorais, de modo a investigar se a mesma possui propriedades citotóxicas e/ou genotóxicas. Os possíveis mecanismos tornam-se relevantes para elucidação dos modos de ação em insetos, em fungos e na patogênese de algumas doenças bacterianas.

Referências Bibliográficas:

Campos M M, Carlini C R, Guimarães J A, Marques-silva V M, Rumjanek V M. Effect of canatoxin on cell cultures. Cell Biol Int Rep. 1991; 15(7): 581-94.

Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nature Protocols. 2007; 2: 1084-1104.