

401

**CLONAGEM E EXPRESSÃO DE UM GENE CRY1AC POTENCIALMENTE TÓXICO À LAGARTA-DA-SOJA.** *Rafael Rodrigues de Oliveira, Maria Helena Bodanese Zanettini (orient.) (UFRGS).*

Proteínas tóxicas, sintetizadas por linhagens de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), são utilizadas no controle de insetos-praga, que causam intensos prejuízos ao setor agrônômico. Para a soja, o principal agente desfolhador é a lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*). Estudos anteriores demonstraram que esse inseto é suscetível a toxinas Cry1Ac expressas por linhagens de *B. thuringiensis*. Entre diversas linhagens de *Bt* isoladas no Estado do RS, a linhagem *Bt*-498 mostrou-se altamente eficiente no combate a este inseto-praga. Visando o isolamento da seqüência nucleotídica codificadora da porção ativa da proteína, um par de oligonucleotídeos iniciadores foi desenhado, tendo por base o alinhamento de seqüências de genes *cry1Ac* disponíveis no GenBank. O DNA de *Bt*-498 foi extraído e utilizado como molde na PCR. Um fragmento de aproximadamente 1,8 Kb foi amplificado e utilizado para clonagem no vetor pGEM-T *Easy*. Cinquenta e cinco colônias brancas foram selecionadas para extração de plasmídeos, que foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 0,8%. Todos passaram por hibridização contra um fragmento contendo um gene *cry1Ac* sintético. Aqueles que apresentaram sinal positivo e os que continham um inserto de tamanho grande foram utilizados como molde em PCR, com *primers* do vetor e do gene *cry1Ac*. De um total de 27 plasmídeos testados, cinco continham inserto de tamanho correspondente a genes *cry1Ac*. Destes, dois foram enviados para seqüenciamento. O fragmento amplificado também foi clonado no vetor de expressão pGEX-4T3 para obtenção de extrato celular contendo a proteína Cry1Ac, que será utilizado em bioensaios com larvas de *A. gemmatalis*, a fim de confirmar a funcionalidade da proteína recombinante. (PIBIC).