

456

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO GENE CRY1AC DE UMA LINHAGEM DE BACILLUS THURINGIENSIS PROVENIENTE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL.**

Rafael Rodrigues de Oliveira, Milena Schenkel Homrich, Luciane Maria Pereira Passaglia, Maria Helena Bodanese Zanettini (orient.) (UFRGS).

Proteínas tóxicas sintetizadas por linhagens de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) são utilizadas no biocontrole de insetos-praga, que causam prejuízos consideráveis ao setor agrônomo. Estratégia interessante é a expressão de proteínas Cry, nas plantas atacadas. Uma vez sintetizadas, nos tecidos vegetais, essas proteínas exercem proteção durante todo o desenvolvimento da planta. O principal desfolhador da soja é a lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*). Estudos anteriores demonstraram que esse inseto é suscetível a toxinas Cry1Ac expressas por linhagens de *Bt* isoladas no RS, entre elas *Bt-872*. Visando a isolar a seqüência nucleotídica codificadora da porção ativa da proteína, um par de primers foi desenhado, tendo por base o alinhamento de seqüências de genes *cry1Ac* disponíveis no GenBank. O DNA de *Bt-872* foi extraído e utilizado como molde na PCR. Um fragmento de aproximadamente 1,8 Kb foi amplificado e utilizado para clonagem no vetor pGEMT *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 fragmento contendo um gene *cry1Ac* sintético. Aqueles que apresentaram sinal positivo e os que continham inserto grande foram utilizados como molde em PCR, com primers do vetor e do gene *cry1Ac*. De um total de 27 plasmídeos testados, 5 continham inserto de tamanho correspondente a genes *cry1Ac*. Destes, 2 foram enviados para seqüenciamento. O fragmento amplificado também foi clonado no vetor de expressão pGEX-4T3, para obtenção da proteína que será utilizada em bioensaio com larvas de *A. gemmatalis*. Confirmada a funcionalidade da proteína após a modificação de códons para melhor expressão em eucariotes, o gene será utilizado na transformação de soja. (Fapergs).