

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).