



**Biologia Molecular, Biotecnologia e Biossegurança**

**Categoria: Mestrado**

**Expressão do gene heterólogo *cry1Ab* em bactéria diazotrófica endofítica e colonizadora de cana-de-açúcar**

Mauro de Medeiros Oliveira<sup>1</sup>, Patrícia Medeiros Gitahy<sup>2</sup>, Stefan Schawb<sup>3</sup>, José Ivo Baldani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista de Mestrado CAPES, UFRJ, [mauromedeiros@agronomo.eng.br](mailto:mauromedeiros@agronomo.eng.br)

<sup>2</sup>Analista Embrapa Agrobiologia, [patricia@cnpab.embrapa.br](mailto:patricia@cnpab.embrapa.br)

<sup>3</sup>Pesquisador Embrapa Agrobiologia, [sschawb@cnpab.embrapa.br](mailto:sschawb@cnpab.embrapa.br), [ibaldani@cnpab.embrapa.br](mailto:ibaldani@cnpab.embrapa.br)

O desenvolvimento da biologia molecular permitiu que novos produtos biotecnológicos fossem desenvolvidos. Concomitantemente, o sequenciamento do genoma da bactéria diazotrófica endofítica *Gluconacetobacter diazotrophicus* abriu novas perspectivas para estudos relacionados com sua genômica funcional e seu uso para expressão de genes heterólogos de interesse. O presente trabalho tem o objetivo de inserir, no genoma de *G. diazotrophicus*, o gene *cry1Ab*, isolado de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* estirpe S76. Esse gene é responsável pela produção da delta-endotoxina Cry1Ab, letal para a broca da cana-de-açúcar. A primeira etapa do trabalho consistiu em sub-clonagem do gene nos vetores comerciais pGEM-T easy e pCC1. Para clonar o gene, foi usada técnica de PCR com iniciadores específicos para o gene *cry1Ab*, contendo a sequência referente ao sítio *XhoI* para facilitar a ligação do fragmento amplificado nos plasmídeos. O produto amplificado no tamanho de 3,5 Kb foi ligado com sucesso nos vetores comerciais. A próxima etapa consiste em sub-clonagem do gene *cry1Ab* no plasmídeo pTnMod-OGmGusA. Este novo plasmídeo será inserido em *Escherichia coli* DH10B, pela técnica de eletroporação, com o objetivo de avaliar a capacidade da bactéria em expressar a proteína heteróloga Cry1Ab. Com base na produção da proteína, a construção será transferida para *G. diazotrophicus*, para avaliar a capacidade da mesma em produzir a delta-endotoxina.

**Palavras-chave:**

bactéria endofítica diazotrófica, broca-da-cana, Cry1Ab.