

EXPRESSÃO DA NEUROTOXINA TX4(6-1) EM SISTEMA HETERÓLOGO E BIOENSAIO COM A LAGARTA-DO-CARTUCHO (*SPODOPTERA FRUGIPERDA*)

FIGUEIREDO, J.E.F.¹, ROCHA, T.L., FONTES, M.A. CRUZ, I. KALAPOTHAKIS, E. GOMEZ, M.V. e PURCINO, A.A.C.

Insetos-praga causam grandes perdas nas lavouras e seu controle está baseado principalmente no uso de inseticidas químicos. Desenvolvimento de populações resistentes, redução de insetos benéficos e efeitos tóxicos à saúde humana são alguns dos efeitos negativos dos pesticidas no meio ambiente. Nos últimos anos as pesquisas sobre pragas agrícolas têm enfatizado o controle biológico e abordagens moleculares. Produção de plantas transgênicas resistentes ou tolerantes constitui uma estratégia molecular visando defesa contra insetos-praga. A proteína Tx4(6-1) isolada da glândula de veneno da aranha armadeira brasileira (*Phoneutria nigriventer*) possui atividade inseticida. O cDNA Tx4(6-1) foi clonado e codifica uma proteína precursora com 82 resíduos de aminoácidos. Destes, 16 no N-terminal correspondem ao peptídeo sinal de endereçamento para o retículo endoplasmático. No lúmen da glândula de veneno o propeptídeo é clivado por proteases específicas originando o peptídeo ativo (48aa) que exibe atividade inseticida. A região codificadora do peptídeo ativo (144 pb) de Tx4(6-1) foi amplificada por PCR, clonada em pUC 18 e no vetor pMAL de expressão em bactéria. O sequenciamento confirmou a ORF do peptídeo ativo que foi expresso em *Escherichia coli* M15. A proteína de fusão parcialmente purificada por cromatografia de afinidade foi clivada com fator Xa e usada em biotestes com a lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*). Os testes preliminares indicaram que o peptídeo expresso possui ação inseticida eficaz em larvas (100% de mortalidade). Anticorpos policlonais foram produzidos em coelho usando a proteína de fusão eletroeluída após SDS/PAGE.

Palavras-chaves: Neurotoxina Tx4(6-1), Expressão, Proteína de fusão, Anticorpos, *Phoneutria*, Controle biológico

Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, 35701-970, Sete Lagoas, MG. e-mail: jeff@cnpms.embrapa.br