

RESUMO

CAJACHAGUA, C. **Comportamento estrutural de PstS e PhoX de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* na captação de fosfato e sua relação com proteínas quimiotáticas.** 2021. 87 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) –Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP, 2021.

Xanthomonas citri subsp. *citri* é uma Gammaproteobactéria causadora do cancro cítrico em plantas cítricas, afetando a qualidade dos frutos e causando prejuízos econômicos. Para o controle da doença, esforços têm sido feitos no sentido de compreender sua fisiologia e mecanismos patogênicos. O fosfato é essencial para as bactérias em geral, como para o gênero *Xanthomonas* uma vez que desempenha papéis importantes no metabolismo celular. Durante as condições de privação de fosfato, um dos sistemas mais importantes responsáveis pela captação deste ânion é o sistema Pst (PstSCAB-PhoU), no qual PstS é a proteína ligadora de fosfato com alta afinidade (*phosphate-binding protein*, PBP), localizada no periplasma. No caso de *X. citri*, duas PBPs foram anotadas no seu genoma, PstS e seu parálogo denominado PhoX. Na presente pesquisa, essas duas proteínas, foram estudadas em um nível estrutural por métodos biofísicos. Técnicas como Dicroísmo Circular (CD), Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS), fluorescência dos triptofanos (TSF) e dinâmica molecular (MD) mostraram que PstS e PhoX, apesar de conservadas estrutural e funcionalmente, apresentam diferenças relevantes no seu comportamento em solução, estabilidade e flexibilidade. A afinidade de PhoX para o fosfato foi determinada pela primeira vez e apresenta um K_d de 6.1 μM. Adicionalmente, análises de bioinformática mostraram que PhoX e PstS conservam resíduos carregados positivamente com proteínas ligadoras de ânions que podem ter papel importante no processo de transporte do ânion. A relação entre essas duas PBPs e a quimiotaxia em *X. citri* não foi estabelecida, mas a partir da obtenção de cepas mutantes com deleção única dos genes *pstS* e *phoX* poderá ser estudada futuramente na presença e ausência de fosfato.

Palavras-chave: Dinâmica molecular. Proteínas ligadoras periplasmáticas. Captação de fosfato. Afinidade por fosfato. Sistema Pst.

ABSTRACT

CAJACHAGUA, C. **Structural behavior of PstS and PhoX from *Xanthomonas citri* subsp. *citri* in the uptake of phosphate and their relation with chemotactic proteins.** 2021. 87 p. Master thesis (Microbiology) – Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, SP, 2021.

Xanthomonas citri subsp. *citri* is a Gammaproteobacteria that causes the canker disease in citrus plants affecting the quality of fruits and causing economic losses. To control this disease, efforts have been made to understand its physiology and pathogenic mechanisms. Phosphate is essential for bacteria as well as for *Xanthomonas* genus once it plays important role in cell metabolism. During conditions of phosphate starvation, one of the most important systems responsible for the anion uptake is Pst system (PstSCAB-PhoU), where PstS is the protein that bind phosphate molecules with high affinity (*phosphate-binding protein*, PBP), and is located on the periplasm. In the case of *X. citri*, two PBPs were annotated, PstS and its paralog named PhoX. In the present research, these proteins were studied at a structural level using biophysics methods. Techniques such as Circular dichroism (CD), Small-angle X-ray scattering (SAXS), Tryptophan fluorescence spectroscopy (TSF) and molecular dynamic simulation (MD) showed that, despite being structurally and functionally conserved, PstS and PhoX present relevant differences, such as behavior in solution, stability, and flexibility. The affinity of PhoX for phosphate was determined for the first time with Kd value of 6.1 μ M. Furthermore, bioinformatics analyzes showed that PhoX and PstS conserve residues positively charged between periplasmic binding proteins that may play an important role in the transport process of anions. The relationship between these two PBPs and chemotaxis in *X. citri* was not established but from the obtaining of mutant strains with single deletion of genes *pstS* and *phoX* this can be further studied in the presence and absence of phosphate.

Key words: Molecular dynamics. Periplasmic-binding protein. Phosphate uptake. Phosphate affinity. Pst system.