

SELEÇÃO E ANÁLISE *IN SILICO* DE ENDOLISINAS PARA O CONTROLE DE *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Igor Vinicius Ramos Otero^{1*}; Caio Felipe Cavichia Zamunér¹; Mario Nicolas Caccalano¹; Henrique Ferreira¹

¹Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro-SP. *E-mail: igor.otero@unesp.br

O cancro cítrico é uma doença sem cura causada pela bactéria Gram-negativa *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*). Atualmente, a mitigação da doença se dá por técnicas de manejo integrado, incluindo aplicações de cobre sobre a planta. Além da toxicidade e fitotoxicidade, a presença de cobre no campo pode contribuir para a seleção de linhagens de *X. citri* resistentes a esse agente. Bacteriófagos (fagos), são vírus que infectam bactérias, e que expressam endolisinas na fase tardia do ciclo lítico. Endolisinas são hidrolases que quebram a parede celular de bactérias e podem promover o controle do crescimento microbiano. O objetivo do presente estudo foi selecionar três endolisinas diferentes, a partir de 71 genomas de fagos infectantes de *X. citri*, e caracterizá-las molecularmente. Inicialmente foi feita a análise filogenômica, utilizando o software Mash, visando selecionar três fagos com maior distância filogenética entre si. A anotação foi feita utilizando o software Pharokka. Sequências anotadas como lisina ou endolisina foram selecionadas para análises de similaridade e domínio catalítico utilizando a ferramenta HHpred. A diferença entre as endolisinas foi determinada pelo método de máxima verossimilhança, utilizando o software Mega 11. Informações sobre tamanho e ponto isoelétrico foram preditos utilizando a ferramenta ProtParam. As estruturas das endolisinas foram preditas utilizando o software ColabFold v1.5.5: AlphaFold2. A partir da análise filogenômica foram selecionados os fagos CP1, CP2 e XacP77, como os mais distantes entre si. Com exceção do fago CP2, com duas endolisinas anotadas, cada fago apresentou uma endolisina em seu genoma. As endolisinas CP1_32, CP2_07 e XacP77_85 foram selecionadas para as análises de caracterização molecular. As três endolisinas, apesar de diferentes entre si, apresentaram o domínio muramidase / peptidoglicano hidrolase. O tamanho das endolisinas variou pouco, entre 19,8 e 22,6 kDa; com ponto isoelétrico teórico entre 8,4 e 9,7 (alcalino). Com relação a estrutura secundária, a endolisina XacP77_85 foi a que apresentou o maior Score (= 237), menor *e-value* ($6,8 \times 10^{-36}$) e maior probabilidade (100%), indicando elevada similaridade estrutural com a endolisina do fago infectante de *Salmonella enterica*. A predição estrutural revelou que as três endolisinas são globulares, constituídas basicamente por alfa hélices e alças. A seleção dessas três novas endolisinas servirá de base para estudos de expressão heteróloga e engenharia estrutural visando obter novos agentes antimicrobianos eficazes contra *X. citri*.

Palavras-chave: Bacteriófagos; enzibióticos; biotecnologia.

Agradecimentos: FAPESP #2023/08535-2 e #2021/10577-0.