

Análisis bioinformático de la presencia de bacteriocinas en el genoma de *Lactobacillus plantarum*.

Cañaverall Sánchez Isabella¹, León Rodríguez Daniel Arturo²,
Gaviria Arias Duverney²

RESUMEN

Los organismos tienen la capacidad de producir sustancias con el fin de sobrevivir a su entorno, estas sustancias son muy variadas, pero en este caso nuestro interés se ve en las bacteriocinas, péptidos antimicrobianos sintetizados ribosomalmente. Existe una gran variedad de estas bacteriocinas, pero muy pocas son usadas en la actualidad a pesar de sus diversas ventajas biotecnológicas. En este caso, se analizó el genoma de *Lactobacillus plantarum*, una bacteria ácido-láctica con gran potencial en producción de estas sustancias antimicrobianas, por medio de herramientas bioinformáticas para hallar posibles genes relacionados con la producción de bacteriocinas. De acuerdo con los análisis realizados, y comparando con genes con secuencias conocidas de bacteriocinas, se encontró que esta bacteria produce y/o tiene genes relacionados con 3 bacteriocinas principalmente, Plantaricina K, Plantaricina A y Glycocin.

PALABRAS CLAVES: Bacteriocina, Bioinformática, Genoma, *Lactobacillus plantarum*

1 Estudiante de VIII semestre, programa de Microbiología, Universidad Libre Pereira

2 Docente Investigador, programa de Microbiología, Universidad Libre Pereira

Bioinformatic analysis of the presence of bacteriocins in the *Lactobacillus plantarum* genome

ABSTRACT

Organisms can produce substances to survive their environment, these substances are very varied, but in this case our interest is seen in bacteriocins, ribosomally synthesized antimicrobial peptides. There is a wide variety of these bacteriocins, but very few are used today despite their various biotechnological advantages. In this case, the genome of *Lactobacillus plantarum*, a lactic acid bacterium with great potential in the production of these antimicrobial substances, was analysed using bioinformatic tools to find possible genes related to the production of bacteriocins. According to the analyses that were carried out, and by comparing with genes with known sequences of bacteriocins, it was found that this bacterium produces and / or has genes related to 3 mainly bacteriocins, Plantaricin K, Plantaricin A and Glycocin.

KEY WORDS: Bacteriocin, Bioinformatic, Genome, *Lactobacillus plantarum*

INTRODUCCIÓN

Los organismos tienen la capacidad de producir diferentes moléculas con el fin de sobrevivir y/o competir por un medio. Hay una gran variedad de estas sustancias como policétidos, péptidos no ribosomales, glicolípidos, terpenoides, entre otros (1). Una de estas sustancias son las bacteriocinas, pequeños péptidos sintetizados ribosomalmente, las cuales poseen acción antimicrobiana y son producidas por una gran diversidad de microorganismos (2), estos son anfipáticos y tienen una acción antagónica en bacterias, protozoos, levaduras y otros que no estén estrechamente relacionado con la bacteria productora (3).

La clasificación de las bacteriocinas ha sido problemática debido a las diversas características que estas presentan, como su estructura, modo de acción, espectro antimicrobiano, entre otros. En este caso, se mencionará la clasificación centrada en el origen de la bacteria productora, es decir, si esta es Gram positiva o Gram negativa. Las bacteriocinas producidas por microorganismos Gram negativos están subdivididas en 5 grupos: las colicinas que son de alto peso molecular, producidas por *E.coli*, las cuales tienen dos mecanismos de acción conocidos, formación de poro en la membrana de la célula objetivo y la degradación de estructuras de ácidos nucleicos. El segundo grupo están las tipo Colicinas, siendo muy similares a las colicinas estructural y funcionalmente, pero se diferencian al ser producidas por

bacterias diferentes a *E.coli* como por ejemplo *Klebsiella spp* y *Pseudomonas spp*. El tercer grupo son las microcinas, son de bajo peso molecular y se subdividen en 2 subclases, las que sufren modificaciones post- trasduccionales y las que no sufren estas modificaciones; Su modo de acción va desde inhibición de funciones enzimáticas esenciales a la formación de poro en la membrana del objetivo (4). Por último, las Talioquinas o conocidas como tipo cola de fago, son bacteriocinas de alto peso molecular, estas se caracterizan por contener elementos estructurales de fago, dándole su forma característica. Su modo de acción conocido es la formación de poro y ruptura de la membrana del objetivo (5). Por otro lado, la clasificación de las bacteriocinas producidas por bacterias Gram positivas, o producidas por bacterias ácido-lácticas (BAL), ya que una gran parte de bacterias Grampositivas productoras de bacteriocinas corresponden a este grupo, está conformado por 3 clases principalmente, pero se han encontrado diferentes clasificaciones según el interés del investigador. La clase I son aquellas de bajo peso molecular y sufren modificaciones enzimáticas durante su biosíntesis y abarcan 2 subclases, su modo de acción se centra en la formación de poro en la membrana del objetivo. La clase II presentan bajo peso molecular y no sufren modificaciones postraduccionales, este tiene 3 subclases y su modo de acción se centra en la permeabilización de la membrana. Finalmente, la clase III son de alto peso molecular, no sufren modificaciones

postraduccionales y se divide en 2 subclases, una con acción bacteriolítica o la otra con acción no lítica (4,6,7).

Lactobacillus plantarum hace parte de las BAL, este microorganismo se ha aislado de diferentes nichos y en productos de consumo diario como vegetales, carne, vino, y en los tractos gastrointestinal, vaginal y urogenital de animales y humanos. Este microorganismo tiene una gran capacidad de adaptación y diversidad de rutas metabólicas, es utilizada para la fermentación de quesos, producción de Kéfir, productos cárnicos fermentados, vegetales fermentados entre otros (8). Este es un microorganismos GRAS (Generalmente Reconocido Como Seguro) por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), adicionalmente, tiene un estado de presuntivamente calificado como seguro (QPS) por las Autoridades Europeas de Seguridad Alimentaria (EFSA) (8).

La Importancia de *Lactobacillus plantarum* se ve reflejada en sus propiedades en el área de seguridad alimentaria, como su capacidad de producir metabolitos antifúngicos con un alto espectro de control de mohos en productos a base de cereales (9), pero su uso principal es en diferentes formulaciones probióticas, por lo que en la actualidad existen una gran diversidad de productos probióticos con este microorganismo por su capacidad en controlar, por ejemplo, los altos niveles de colesterol en sangre debido a que estas la incorporan a su membrana

durante su crecimiento (10), además de estudios sobre el efecto de *Lactobacillus plantarum* para la prevención de enfermedades gastrointestinales y la prevención de diarrea, en este sentido se ha reportado el control de la diarrea causada por *E.coli enterotoxigénica* (ETEC) y la mejora en la funcionalidad de la barrera intestinal mediante la protección de la morfología intestinal y la permeabilidad de este (11). *Lactobacillus plantarum* se ha utilizado como probiótico para el tratamiento del síndrome del intestino irritable, mostrando resultados positivos al apoyar la modulación de la microbiota intestinal, además de la inmunomodulación de las células linfoides y epiteliales del intestino (12).

Con respecto a la producción de bacteriocinas por *Lactobacillus plantarum* han sido reportadas una gran variedad y estas son designadas como Plantaricinas. Siendo aisladas de diferentes nichos como: un viñedo de Koshu, nombrada plantaricina Y, la cual es efectiva contra *Listeria monocytogenes*, *Weissella spp.*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus salivarius*, y *Bacillus subtilis* (13); La plantaricina 163, aislada de vegetales fermentados y con acción contra *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lb. rhamnosus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, y *Pseudomonas fluorescens* (14); la Plantaricina JLA-9 aislada de repollo fermentado, con acción contra *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *S. aureus*, *M. luteus*, *P. fluorescens*, *Serratia marcescens*, *E. coli*,

Salmonella spp., *S. flexneri*, y *Proteus mirabilis* (15), entre otros (tabla 1).

La evaluación de las capacidades genómicas con el uso de herramientas bioinformáticas ha sido implementada en diversas investigaciones, entre ellas, para la identificación de diversos péptidos antimicrobianos, como las bacteriocinas. Las bacteriocinas se encuentran en grupos de genes implicados en la producción, inmunidad y el transporte de la molécula, y estas encuentran de manera adyacente entre sí en el genoma bacteriano (16). La existencia de diferentes herramientas y bases de datos ayudan a identificar y caracterizar estas moléculas de gran interés, algunas de estas herramientas son: antiSMASH <https://antismash.secondarymetabolites.org/> (17), usado para identificar grupos de genes putativos que codifican metabolitos secundarios microbianos; BACTIBASE <http://bactibase.hammamilab.org/main.php> (18) y BAGEL <http://bagel4.molgenrug.nl/>, para seleccionar secuencias del genoma de homología con genes de bacteriocinas conocidas; InterProScan, <https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence> (19) para evaluar la función de la proteína codificada e identificar dominios y sitios claves; BLAST, para la alineación de secuencias; STRING, en el cual se buscan relaciones entre genes (20); BIGSdb, un software usado para analizar las secuencias con una base de datos que contiene información de diferentes genomas bacterianos (21); y muchas otras herramientas disponibles para estos tipos de análisis (22).

Por ejemplo, Bogaardt y colaboradores (2015) realizaron un análisis genómico de 336 genomas neumocócicos para identificar casetes de bacteriocinas, detallando su composición genética, diversidad en las secuencias y otros; Primero tomaron los genomas del GenBank, usaron BIGSdb Genoma Comparator para clasificar los genomas según su perfil alélico teniendo en cuenta los genes *pncP*, *pncT* y *pncW*, ensamblaron y mapearon con SMALT, el uso de RATT para transferir anotaciones, MEGA5 para realizar el árbol filogenético y el uso de BLAST y BAGEL3 para confirmar su naturaleza como casete de bacteriocina (23). Letzel A y colaboradores (2014) investigaron una colección de 211 genomas de bacterias anaeróbicas con el fin de encontrar bacterias potenciales para codificar RiPP (*Ribosomally synthesized and Post-translationally modified Peptides*), usando en este caso NCBI Refseq para obtener las secuencias y analizando los genomas en antiSMASH, BAGEL y BACTIBASE y por medio de BLAST compararon los genes predichos obtenidos de las bases de datos; Obteniendo que más del 25% de anaerobios son capaces de producir RiPP solos o con otros metabolitos secundarios (24).

El objetivo de este documento es el de analizar con el uso de herramientas bioinformáticas el genoma de *Lactobacillus plantarum* para la identificación de posibles genes relacionados con la producción de bacteriocinas.

METODOLOGÍA

Búsqueda de literatura.

Se realizó la búsqueda de literatura en la base de datos de PUBMED, se usaron las palabras clave en inglés: *Bacteriocin*, *Genomic*, *Lactobacillus plantarum* y *Bioinformatics*. Además, se usó el operador booleano *AND* con las siguientes combinaciones: *Lactobacillus plantarum AND bacteriocin AND genome; genomics AND bacteriocins; AND Bioinformatics AND bacteriocins*. Estas búsquedas se filtraron a los últimos 5 años, con el fin de identificar los trabajos que sobre este tema de investigación han sido desarrollados.

Genoma de *Lactobacillus plantarum*

En las bases de datos del NCBI, se identificó el genoma completo de *Lactobacillus plantarum cepa SK151* y se tuvo en cuenta las anotaciones que aparecían en este, es decir, su tamaño, los ORFs, el número de proteínas, entre otros.

Identificación de secuencias codificantes a bacteriocinas en bases de datos

Teniendo en cuenta la información obtenida de diversos artículos donde se realizaron estudios similares, se tuvieron en cuenta 4 bases de datos de búsqueda de péptidos antimicrobianos y/o bacteriocinas en secuencias de diferentes organismos, estas fueron: BAGEL4, antiSMASH, RiPPMiner y DeepRiPP (25–27).

Identificación de ORF desconocidos.

Al observar que, como resultado, de igual manera se obtenían Marcos de Lectura Abierta *Open Reading Frames (ORF)* que no mostraban utilidad, se decidió analizarlos en BLAST para identificarlos con mayor precisión y conocer si estos estaban relacionados con la producción de bacteriocinas.

Identificación de estructura de las bacteriocinas identificadas

Al conocer las bacteriocinas pertenecientes al genoma, se realizó una búsqueda de su estructura de manera 3D para identificar sus características estructurales por medio del programa RasMol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el genoma de *Lactobacillus plantarum cepa SK151* se realizó el primer análisis en las 4 diferentes bases de datos obteniéndose similitudes, las cuales se pueden observar en la Tabla 1, donde se muestra, según la base de datos, la coincidencia en el genoma de *Lactobacillus plantarum* para la producción de bacteriocinas.

Como podemos observar en la tabla 2, se obtuvieron resultados similares en 2 de las 4 bases de datos, Bagel4 y DeepRiPP, pero estos nos muestran a su vez diferencias de las cuales hablaremos a continuación realizando el análisis de-

tallado de cada uno de los resultados de las bases de datos.

Bagel4 muestra como resultado lo observado en la figura 1, en este observamos los nombres de los genes, los promotores, los terminadores, además de mostrar los fragmentos relacionados con la regulación, transporte, inmunidad y otros factores que están vinculados a la producción de bacteriocinas, y *ORFs* pequeños los cuales no mostraban su función en la secuencia y en la producción de bacteriocinas, así que estos fueron sometidos a BLAST, siendo un total de 6 *ORFs* y 27 *sORFs* (*small Open Reading Frames*) (tabla 2). Donde, 4 de los *ORFs* mostraron ser proteínas hipotéticas o no identificadas, pero en el caso del *ORF* 18 y *ORF* 32 mostraron similitudes con secuencia que codifican para la PlnQ putativa, siendo esta uno de los loci identificados en el genoma de diferentes cepas de *L. plantarum*, estos se encuentran unos 25 genes que cubren de 18-19kb y está organizado regularmente en 5 a 6 operones, regularmente estos contienen el operón de bacteriocina, el de transporte y en la parte menos conservada contiene operones regulatorios y 2 o 3 operones de bacteriocina, pero además contiene 1 o 2 operones con funciones no conocidas como lo es el caso del PlnQ (28); para el caso del análisis de los *sORFs* todos dieron para proteínas hipotéticas o no identificados.

En el caso de DeepRiiP, una base de datos centrada principalmente en la identificación de RiiPs (Péptidos sinte-

tizados ribosómicamente y modificados post-trasduccionalmente), es decir, en este caso esta base de datos solo identificaría bacteriocinas clasificadas principalmente en la clase I, ya que estas sufren modificaciones en su procesos de biosíntesis (4,6,7). Como se observa en la tabla 2 se obtuvo un total de 9 similitudes a péptidos antimicrobianos, 5 de esas similitudes fueron relacionadas con bacteriocinas, Plantaricina K, Microviridina E, Microviridina I, Plantaricina A y Ericina A. Pero, en este caso, la base de datos nos muestra la exactitud de esta predicción por medio del puntaje, un valor formulado por la misma base de datos, la cual nos señala que si este valor es mayor a 0,2 la similitud entre la secuencia y la base de datos tiene una coincidencia exacta o muy bajas derivaciones entre ellas. Tomando en cuenta lo anterior, las verdaderas coincidencias a tener en cuenta según este valor de puntaje serían la plantaricina K y la plantaricina A, ya que los demás resultados arrojados muestran un valor de score muy por debajo de 0,2, en todos los casos este valor es negativo. RiiP-Miner por otro lado, nos muestra como resultado que el genoma tiene secuencias que codifican para la producción de la bacteriocina Glycocin, este es un Ripps que se caracteriza por tener uno o dos azúcares en los residuos de serina, treonina o cisteína, además de dos enlaces disulfuro los cuales estabilizan la estructura (29) (figura 2), pero al igual que Bagel4 mostro *ORFs* los cuales no mostraban su utilidad o función específica, así que de igual forma fueron

sometidas estas secuencias a BLAST, siendo un total de 14 ORF analizadas. 10 de estos ORF están relacionados con la producción de bacteriocinas en *Lactobacillus plantarum cepa SK15*, es decir, el ORF 13, 21,14,10,24,5,17, 8 ,7 y 20 (Tabla 2).

La base de datos antiSMASH mostro de manera más sencilla los metabolitos secundarios y/o péptidos antimicrobianos producidos por el microorganismo según la secuencia del genoma, en este caso de manera muy general solo menciona que produce bacteriocinas (figura 3), terpenos (figura 4) y una molécula llamada T3PKS, conocido como poliketido sintasa tipo III, es decir, un conjunto enzimático para la producción de metabolitos secundarios de interés farmacéutico principalmente(30)(figura 5).

Nuestro interés es la producción de bacteriocinas y como se ve en la figura 3, donde se observa en segmento y, además, dos secuencias relacionadas con la producción de bacteriocinas, las cuales fueron mencionadas en la tabla 1, TIGR01193, un transportador de bacteriocina tipo ABC clasificado como un modelo de múltiples dominios (31); y peptidasa C39, también relacionada con el transporte de bacteriocina tipo ABC (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/InterPro/IPR005897/>).

Teniendo en cuenta los resultados anteriormente obtenidos en las bases de datos, se determinó que las bacteriocinas totalmente identificadas con el uso de

los diferentes programas fueron Glycocin, Plantaricina K y Plantaricina A, solamente estas 3 moléculas, debido a que las demás no tienen una coincidencia total a bacteriocinas o se tratan de genes que están relacionados con la producción, transporte y/o activación, más no el conjunto total de una bacteriocina en específico. A partir de estos resultados se identificó la presencia de estructuras en modelo 3D y se evaluaron en RasMol, obteniendo como resultado en el caso de la Plantaricina K (figura 6), el cual tiene un largo de 32 residuos, donde se forma una hélice- α entre la Gly-9 y Leu-24 (figura 7) además, la Gly-7, Gly-25 y Gly-26 tienen un pequeño efecto en la actividad antimicrobiana (figura 8) (32). Además, al momento de analizar la estructura en Rasmol nos muestra la presencia de 360 puentes de hidrogeno, 20 hélices, 65 giros y 0 hebras en total.

En el caso de la plantaricina A (figura 9), tiene una longitud de 26 residuos (PInA-26) con dos N-terminales (Lys y Ser), con formación truncada que contiene 23 residuos (PInA-23) o de 22 residuos (PInA-22), pero a pesar de estas diferencias su modo de acción sigue siendo igual, es decir, la interacción con los lípidos de membrana de la célula diana (figura 10) (33). Además, Rasmol otorga información como que la molécula cuenta con un total de 350 uniones de puente de hidrogeno, 23 hélices, 0 hebras y 59 giros.

Y en el caso del Glycocin, en este caso Glycocin F, (figura 11) hace parte de

las bacteriocinas de clase IV ya que en su estructura contiene de 1 a 2 carbohidratos, en este caso dos N-acetilglucosamina (figura 12), uno unido al átomo O γ de Ser -18 y el segundo con enlace en S γ del residuo C-terminal en la Cys-43. Además, contiene 2 hélices de dos giros unidos por enlaces disulfuro, conectadas secuencialmente por un bucle presente en la Ser-18 O-glicosilado, pero la segunda hélice continua por una cola C-terminal que presenta la Cys-43 Glicosilada (34) (Figura 13). Además, Rasmol nos permitió definir que en total esta molécula cuenta con 227 uniones de puente de Hidrogeno, 25 hélices, 0 hebras y 67 giros.

CONCLUSION

Existe una variedad muy grande de bacteriocinas que son producidas por una gran variedad de microorganismos, pero en la actualidad muy pocas son aprovechadas en las diferentes áreas de la biotecnología, principalmente alimentos. Es por esto por lo que existen retos en la ciencia para identificar nuevas sustancias antimicrobianas que puedan ser aplicadas en diferentes áreas y expandir la aplicación de estas no solo al área de preservación de alimentos, si no también a el área de la salud y otros.

REFERENCIAS

1. Donia MS, Fischbach MA. Small molecules from the human microbiota. *Science* (80-). 2015 Jul;349(6246):1254766.
2. Newstead LL, Varjonen K, Nuttall T, Paterson GK. Staphylococcal-Produced Bacteriocins and Antimicrobial Peptides: Their Potential as Alternative Treatments for Staphylococcus aureus Infections. *Antibiotics*. 2020;9(2):40.
3. Salwan R, Sharma V. Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria. *Microbiol Res*. 2020;231:126374.
4. Simons A, Alhanout K, Duval RE. Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria. *Microorganisms*. 2020 Apr;8(5):639.
5. Scholl D. Phage Tail-Like Bacteriocins. *Annu Rev Virol*. 2017 Sep;4(1):453–67.
6. Alvarez-Sieiro P, Montalbán-López M, Mu D, Kuipers OP. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016 Apr;100(7):2939–51.
7. Radaic A, de Jesus MB, Kapila YL. Bacterial anti-microbial peptides and nano-sized drug delivery systems: The state of the art toward improved bacteriocins. *J Control Release*. 2020 May;321:100–18.
8. Seddik HA, Bendali F, Gancel F, Fliss I, Spano G, Drider D. Lactobacillus

- plantarum and Its Probiotic and Food Potentialities. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2017 Jun;9(2):111–22.
9. Russo P, Arena MP, Fiocco D, Capozzi V, Drider D, Spano G. *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. *Int J Food Microbiol*. 2017;247:48–54.
 10. Huang Y, Wang X, Wang J, Wu F, Sui Y, Yang L, et al. *Lactobacillus plantarum* strains as potential probiotic cultures with cholesterol-lowering activity. *J Dairy Sci*. 2013 May;96(5):2746–53.
 11. Yang KM, Jiang ZY, Zheng CT, Wang L, Yang XF. Effect of *Lactobacillus plantarum* on diarrhea and intestinal barrier function of young piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K881. *J Anim Sci*. 2014;92(4):1496–503.
 12. Le B, Yang SH. Efficacy of *Lactobacillus plantarum* in prevention of inflammatory bowel disease. *Toxicol Reports*. 2018;5:314–7.
 13. Chen Y, Wang Y, Chow Y, Yanagida F, Liao C, Chiu C. Purification and characterization of plantaricin Y, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 510. *Arch Microbiol*. 2014 Mar;196(3):193–9.
 14. Hu M, Zhao H, Zhang C, Yu J, Lu Z. Purification and Characterization of Plantaricin 163, a Novel Bacteriocin Produced by *Lactobacillus plantarum* 163 Isolated from Traditional Chinese Fermented Vegetables. *J Agric Food Chem*. 2013 Nov;61(47):11676–82.
 15. Zhao S, Han J, Bie X, Lu Z, Zhang C, Lv F. Purification and Characterization of Plantaricin JLA-9: A Novel Bacteriocin against *Bacillus* spp. Produced by *Lactobacillus plantarum* JLA-9 from Suan-Tsai, a Traditional Chinese Fermented Cabbage. *J Agric Food Chem*. 2016;64(13):2754–64.
 16. Czaplewski L, Bax R, Clokie M, Dawson M, Fairhead H, Fischetti VA, et al. Alternatives to antibiotics—a pipeline portfolio review. *Lancet Infect Dis*. 2016 Feb;16(2):239–51.
 17. Blin K, Shaw S, Steinke K, Villebro R, Ziemert N, Lee SY, et al. antiSMASH 5.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2019 Jul 2;47(W1):W81–7. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article/47/W1/W81/5481154>
 18. Hammami R, Zouhir A, Le Lay C, Ben Hamida J, Fliss I. BACTIBASE second release: a database and tool platform for bacteriocin characterization. *BMC Microbiol* [Internet]. 2010;10(1):22. Available from: <http://>

bmcmicrobiol.biomedcentral.com/
articles/10.1186/1471-2180-10-22

19. Jones P, Binns D, Chang H-Y, Fraser M, Li W, McAnulla C, et al. InterProScan 5: genome-scale protein function classification. *Bioinformatics* [Internet]. 2014 May 1;30(9):1236–40. Available from: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btu031>
20. Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, Forslund K, Heller D, Huerta-Cepas J, et al. STRING v10: protein–protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic Acids Res.* 2015 Jan;43(D1):D447–52.
21. Jolley KA, Maiden MC. BIGSdb: Scalable analysis of bacterial genome variation at the population level. *BMC Bioinformatics.* 2010 Dec;11(1):595.
22. Rezaei Javan R, van Tonder AJ, King JP, Harrold CL, Brueggemann AB. Genome Sequencing Reveals a Large and Diverse Repertoire of Antimicrobial Peptides. *Front Microbiol.* 2018;9.
23. Bogaardt C, van Tonder AJ, Brueggemann AB. Genomic analyses of pneumococci reveal a wide diversity of bacteriocins – including pneumocyclicin, a novel circular bacteriocin. *BMC Genomics.* 2015 Dec;16(1):554.
24. Letzel A-C, Pidot SJ, Hertweck C. Genome mining for ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs) in anaerobic bacteria. *BMC Genomics.* 2014;15(1):983.
25. Collins FWJ, O’Connor PM, O’Sullivan O, Gómez-Sala B, Rea MC, Hill C, et al. Bacteriocin Gene-Trait matching across the complete *Lactobacillus* Pan-genome. *Sci Rep.* 2017 Dec;7(1):3481.
26. Russell AH, Truman AW. Genome mining strategies for ribosomally synthesised and post-translationally modified peptides. *Comput Struct Biotechnol J.* 2020;18:1838–51.
27. Merwin NJ, Mousa WK, Dejong CA, Skinnider MA, Cannon MJ, Li H, et al. DeepRiPP integrates multiomics data to automate discovery of novel ribosomally synthesized natural products. *Proc Natl Acad Sci.* 2020 Jan;117(1):371–80.
28. Diep DB, Straume D, Kjos M, Torres C, Nes IF. An overview of the mosaic bacteriocin *pln* loci from *Lactobacillus plantarum*. *Peptides.* 2009 Aug;30(8):1562–74.
29. Biswas S, Garcia De Gonzalo C V, Repka LM, van der Donk WA. Structure–Activity Relationships of the

- S-Linked Glycocin Sublancin. *ACS Chem Biol*. 2017 Dec;12(12):2965–9.
30. Hu D, Chen Y, Sun C, Jin T, Fan G, Liao Q, et al. Genome guided investigation of antibiotics producing actinomycetales strain isolated from a Macau mangrove ecosystem. *Sci Rep* [Internet]. 2018 Dec 24;8(1):14271. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-32076-z>
31. Franke CM, Tiemersma J, Venema G, Kok J. Membrane Topology of the Lactococcal Bacteriocin ATP-binding Cassette Transporter Protein LcnC. *J Biol Chem*. 1999 Mar;274(13):8484–90.
32. Rogne P, Haugen C, Fimland G, Nissen-Meyer J, Kristiansen PE. Three-dimensional structure of the two-peptide bacteriocin plantaricin JK. *Peptides*. 2009 Sep;30(9):1613–21.
33. Kristiansen PE, Fimland G, Mantzilas D, Nissen-Meyer J. Structure and Mode of Action of the Membrane-permeabilizing Antimicrobial Peptide Pheromone Plantaricin A. *J Biol Chem*. 2005 Jun;280(24):22945–50.
34. Venugopal H, Edwards PJB, Schwalbe M, Claridge JK, Libich DS, Stepper J, et al. Structural, Dynamic, and Chemical Characterization of a Novel S-Glycosylated Bacteriocin. *Biochemistry*. 2011 Apr;50(14):2748–55.

TABLAS

Tabla 1. Bacteriocinas conocidas producidas por *L.plantarum* y sus características. Adaptada de Seddik HA, Bendali F, et al. (2017) (8).

Bacteriocina	Cepa productora/Aislada	Estructura de bacteriocina	Espectro de acción
Plantaricina S	<i>L. plantarum</i> LPCO10 / Oliva verde fermentada	Dos péptidos de 26 y 24 residuos.	<i>Clostridia</i> , <i>Propionibacteria</i> , y <i>Enterococcus faecalis</i>
Plantaricina E,F y Plantaricina J,K	<i>L. plantarum</i> C11/ Pepino fermentado	Bacteriocinas de 2 péptidos: Plantaricina JK (25 y 32 residuos) y Plantaricina EF (33 y 34 residuos).	Algunas BAL como: <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , y <i>Streptococcus</i>
Plantaricina ST-28MS	<i>L. plantarum</i> ST28MS / Melaza	Dos péptidos únicos.	<i>L. casei</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , y <i>Acinetobacter baumannii</i>
Plantaricina W	<i>L. plantarum</i> LMG 2379/ Vino	Dos péptidos de 29 y 32 residuos.	Un gran número de Gram positivas como: <i>S. aureus</i> , <i>Listeria innocua</i> , y <i>E. faecalis</i>
Plantaricina Y	<i>L. plantarum</i> 510/ Viñedo de Koshu	Único péptido de 41 residuos.	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Weissella spp.</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , y <i>Bacillus subtilis</i>
Plantaricina ZJ5	<i>L. plantarum</i> ZJ5/ Mostaza fermentada	Único péptido de 44 residuos.	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>E. coli</i> y <i>Salmonella spp.</i>
Plantaricina C	<i>L. plantarum</i> LL441/ Queso	Único péptido de 27 residuos.	Un gran número de Gram positivos como: <i>B. subtilis</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> , y <i>Clostridium tyrobutyricum</i>
Plantaricina ST8SH	<i>L. plantarum</i> ST8SH/ Salami	Único péptido (secuencia no reportada)	<i>Enterococcus spp.</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Listeria spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , y <i>Klebsiella pneumonia</i>

Plantaricina 163	<i>L. plantarum</i> 163/ Vegetales fermentados	Único péptido de 32 residuos.	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , y <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Plantaricina JLA-9	<i>L. plantarum</i> JLA-9 / Col fermentada	Único péptido corto de 8 residuos.	Ancho espectro que incluye: <i>Bacillus spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>S. aureus</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>S. flexneri</i> , y <i>Proteus mirabilis</i>

Tabla 2. Información obtenida de diferentes bases datos al someter en estas el genoma de *Lactobacillus plantarum* cepa SK151

Bases de datos	Peptidos antimicrobianos
Bagel4	Plantaricina N
	Plantaricina A
	Plantaricina K
	Plantaricina F
	Plantaricina J
	Plantaricina E
DeepRiPP	Plantaricina K
	Microviridina E
	Microviridina I
	Plantaricina A
	Peptido antimicrobiano GP-19
	Ericina A
	<i>S.aureus</i> Autoinducing peptide 3
	<i>S.aureus</i> Autoinducing peptide 2
<i>S.aureus</i> Autoinducing peptide 1	
RiPPMiner	Glicocin
antiSMASH	Peptidasa C39
	TIGR01193

Tabla 3. ORF y SORFs dados por las bases de datos, secuencia y que producto codifican.

ORF	Secuencia (AA)	Codifica (BLAST)
orf 1	MLVFIWIGLTA VITIGLGYWSYVIGLGRKNSKLVGSPVIGYFVRLVFLVVLGEGVRELITSLVGNLVTIAYVLLFVWGRQRFRNQKQTK	Proteína Hipotética
orf 17	MEEISFEFNSGSKLDSNLYEYKVGKGTIKIDFPDSDNFGVAIVHKNNTETAYIKAPYMKFCTGRHA	Proteína Hipotética
orf 18	MLNKTNIKKYVPSRSLVALIVFAIVYISDPISISFNQGLSDGAAAR	PinR putativo
orf 32	MKLNRDFYKA VSWLGVGLAVIGLVGDVLLKYNTAVSPWIMILIAIYELRAFTSKRK	plantaricin biosynthesis protein PinQ - PH
orf 58	MWARRVFGYVAGLGLFIQPLVADGWVWNGERPOQINIGHWVALVLTGVAVLRVCRHHYEMPLVLPSPSWSMMGLTALVAVVVVQMGISGLVSPTEIQDDEIMALIHSP LGLLTLVCTNIVSPVLELLFRGIVQNTLRRLPVIGAIILTNVAFALGHGQYASTVGFITGGFESWLVTKTKQLSTAMGCHILVWLVTLINMMWG	Metaloproteasa intramembrana de la familia CPBP
orf 62	MDEISFEFNSGSKLDSNLYEYKVGKESYTKIDLPDSNFGVAIVHKNNTETAYIKALYMKFCTDSHV	Proteína Hipotética
orf 1	VMDITLJUNAIAKAFPKHLRAVLKLPRIARKQSEAA	Proteína Hipotética
orf 2	LWADALCYIRVDRWHDLVTVFAVERNENP	No identificado
orf 3	LQILKINETKRDDESKVRVISEPDDGVKRW	No identificado
orf 4	MAVERMETWRLTSSDGLVRLVLLVYQTG	Proteína no caracterizada
orf 5	VLVVGGCTRIAKNMTVV EISSNKSRRYKSVEGN	No identificado
orf 6	LDYAKMKVTDGKDWVGSNYKKKTLVPKAIIIG	Proteína Hipotética
orf 7	MFKFLKNIMADLFAKIAQNLVRRFWAIFS	No identificado
orf 8	VQYFKENFWPFSFOALTWRFKSMTNVIIP	No identificado
orf 9	LRSFKVLFVWVCKVRSRWVYFSAVWWSGREVKWAQASW	No identificado
orf 10	LRCGGGLAKNLGRRHGNCLVGSNMISHPTVKLFLIPVWRAQHGLEKIKIQLHDFGGN	Antiportador putativo de Na (+) / H (+)
orf 11	LNGEARLESURDFNCWLVNYYFRGIDELLYDNI	No identificado
orf 12	MNYCTIISKNITIKISYNDSTKRYKSERV/ISSSSI ELSDFLCVSLY	No identificado
orf 13	MIVYKCRDIDYQKINALRRKCNVEKFR	No identificado
orf 14	LUIDALKIVLILFELINEFNRLMIFIGTHYKYLINLVYFDLSLIFRLKLS	No identificado
orf 15	MFIIHGHYKLLNWLFDLSLIFRLKLS	No identificado
orf 16	MGVYLEFFSATLKLMLFPLSMFKVIVKSK	No identificado
orf 17	VISGQTSACGLGIDGNVQEMWVKEHGTSKRIQY	No identificado
orf 18	VIMSQFLURKYGALIKLITNAKURLAMTRMNMWNCIFECATILYFRMIVYLDNFTLPO	Proteína Hipotética
orf 19	MTRLMMNCLFECAITYLFRMIVYLDNFTLPO	Proteína Hipotética
orf 20	MLIYFIEYCAVFLVLIURSQLEPSNYLQRLYIIRFHINRKRALSNTDRSSK	No identificado
orf 21	LALTMKSSLNQNKILRIALAKDKPFSFISFC	No identificado
orf 22	VFLYGGIISINVHFLNINVNHHEIPTMLSINI	No identificado
orf 23		
orf 24	LRTHFOKRTLLNDINNOGITVLIDLNRRHVRA	Transposasa de la familia IS30, parcial - PH
orf 25	LDISTITVFLAIVLQVTTNTTVSQLTNVPSLIPLNHTGSKRRSPYGVQAALNFRPIYVYNALL	No identificado
orf 26	VVSKNQSIAFSAFTAEYDGLFNMQRNN	No identificado
orf 27	LITALLINIALSLEOPRLRLAIFSGNSWGFQHS	No identificado
ORF 13	MKSVMKMLNRPDYKAYFWLGVVIAVLGVLDVLLKYNTAVSPWIMILIAIYELRAFTSKRK	plantaricin biosynthesis protein PinQ - PH
ORF 14	MLQELKQYSLPQKLAISGDFNRGGYFKGSRHVHVDVAGISVAGIRGLKLSIR	two-peptide bacteriocin plantaricin EF subunit PinE
ORF 21	MKIQKMGKQSLNEMQKIVGKSSASVLSQMGATAIKQVKKLKKWGW	Bacteriocin A - PH
ORF 25	MLTWVLIUVDKLGAMLNIPETSNRSLSA WMLGEA PLPMIVSV VIFSPICEELIFRGIFFS YALTNQYNHRNVQMIAVVINSUFASVHVDAWEPWYIYTLMSGSLGTYLLAKRDIRMINILVHMG TNLAVFALAAMS	Metaloproteasa intramembrana de la familia CPBP - Pins + T
ORF 10	MKSLDKIAGLGIEMAEKDLTV EGGKNYSKTTWYKSLTLGKVAEGTSSAWHGLG	Bacteriocin -PH
ORF 24	MAHSNKFQINILVIAISLSIALV SFSMAPAYFLUKNNWLMITIGFVIVALEAWGLWLYRHTARVQRPSRDVEVPGEHCTIRDCDYCADNGRAHYC	plantaricin biosynthesis protein Pins
ORF 5	MLNKTNIKKYVPSRSLVALIVFAIVYISDPISISFNQGLSDGAAAR	PinR putativo
ORF 17	MFPYLVEDNAEQRDNKYCKTVNNTIMINEFAMELVR ATDDQKII LADL NQQDQGLFDDMEIVRTNRLDN	two-component response regulator PinD, repressor- Regulation transcription factor
ORF 4	MEEISFEFNSGSKLDSNLYEYKVGKGTIKIDFPDSDNFGVAIVHKNNTETAYIKAPYMKFCTGRHA	Proteína Hipotética
ORF 29	MDEISFEFNSGSKLDSNLYEYKVGKESYTKIDLPDSNFGVAIVHKNNTETAYIKALYMKFCTDSHV	Proteína Hipotética
ORF 8	MTVNMKMDLVDVDAFA PISNKLNGV/VGGAWKFNWSSLRKGFYDGEA GRAIRR	two-peptide bacteriocin plantaricin JK subunit PinJ
ORF 7	MKIKLYLNEFEELTADAENKISGGRSRKNGIYIGYAFGAVERAVLGGSDRYNK	two-peptide bacteriocin plantaricin JK subunit PinK
ORF 20	MKKFLVLRDRELNALSIGGVFHAYSARGVRRNYSKAVGPA DWWISAVRGRHIG	two-peptide bacteriocin plantaricin EF subunit PinF

FIGURAS

Figura 1. Resultados dados por la base de datos Bagel4

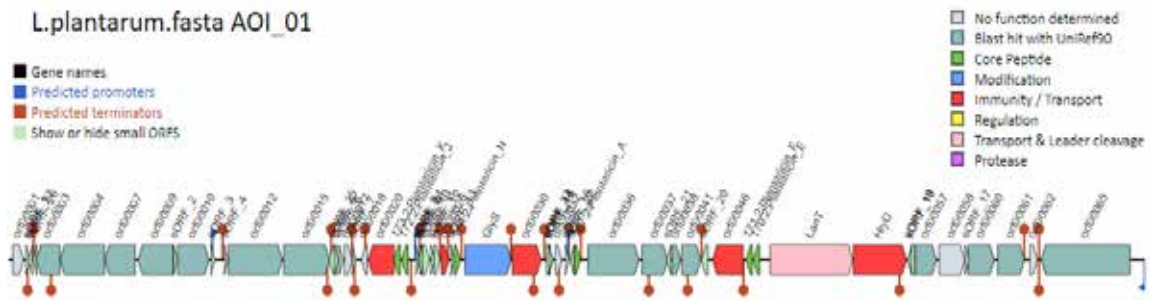


Figura 2. Resultado dado por la base de datos RiiPMiner

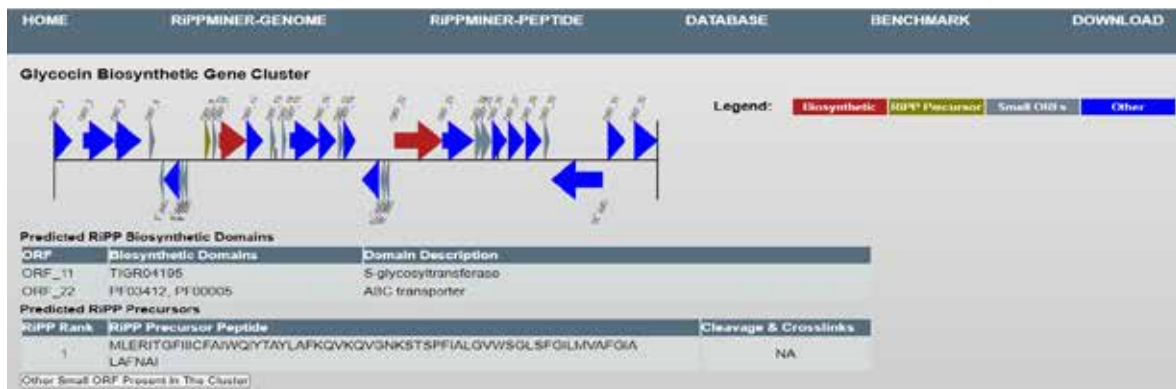


Figura 3. Resultado arrojado por antiSMASH referente a Bacteriocinas.

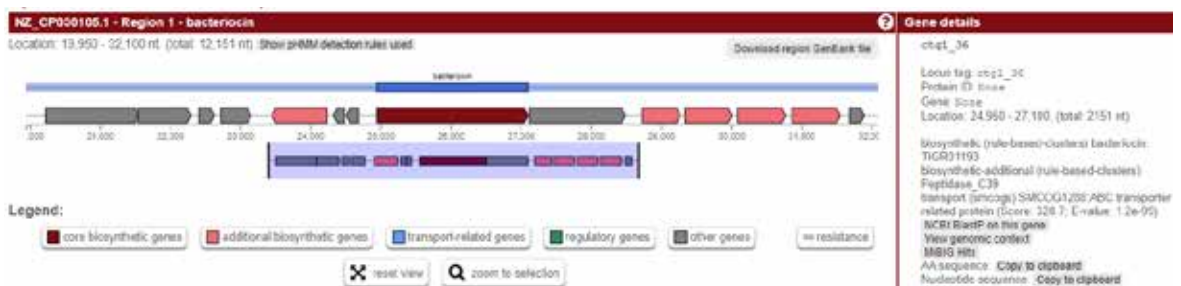


Figura 4. Resultado arrojado por antiSMASH referente a terpenos.

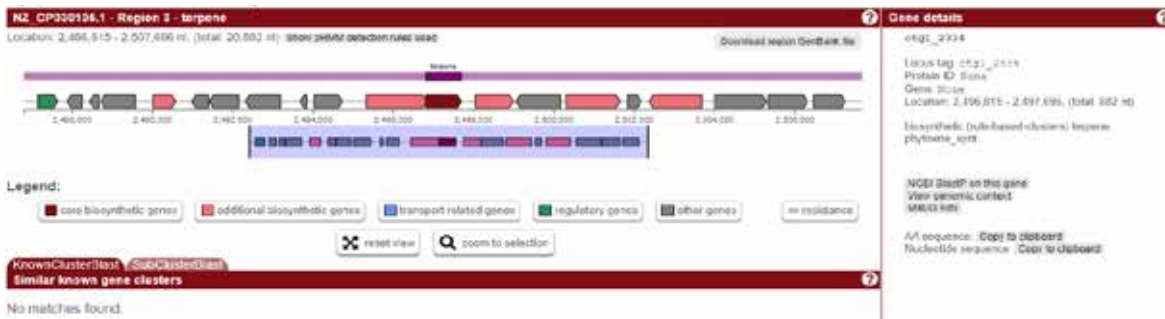


Figura 5. Resultado arrojado por antiSMASH referente a T3PKS.

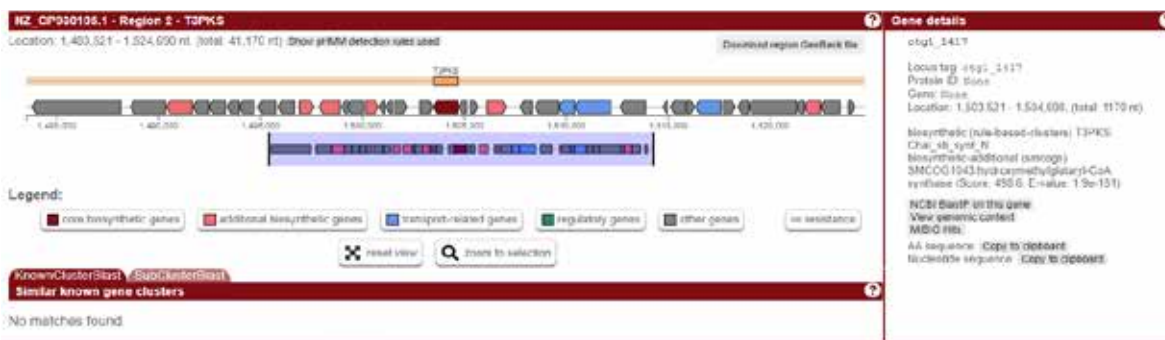


Figura 6. Estructura plantaricina K. (tomada de PDB)

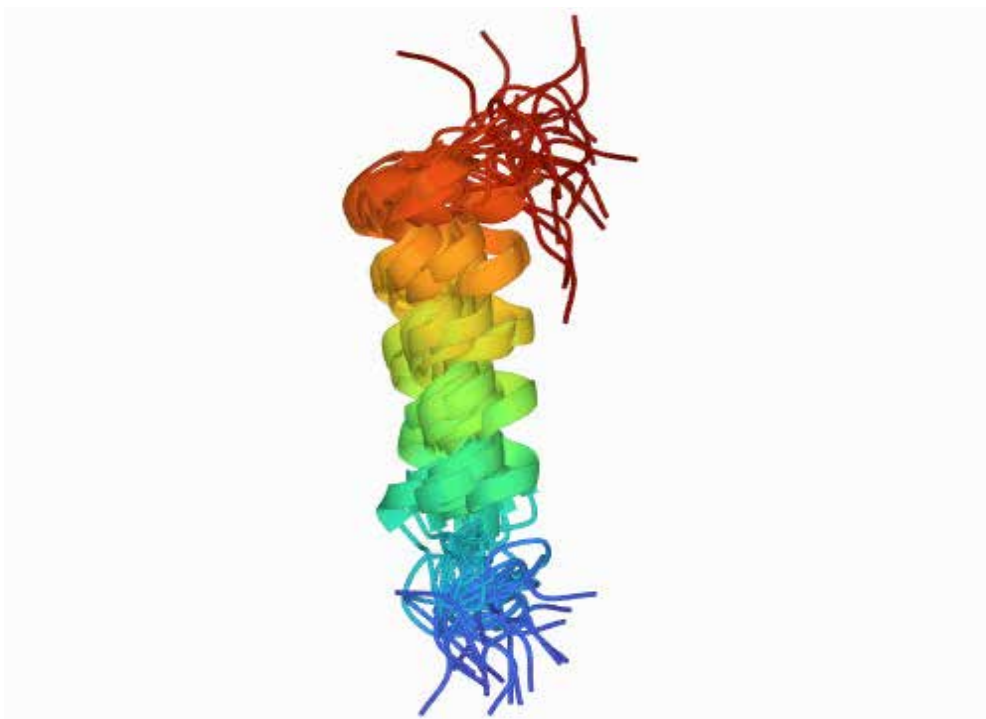


Figura 7. Hélice- α entre Glicina-9 y Leucina-24 presente en plantaricina K, A) muestra su estructura en formato de cintas, B) muestra estructura en formato de cintas, resaltando en color azul claro la hélice, en azul oscuro la Gly-9 y en blanco la Leu-24

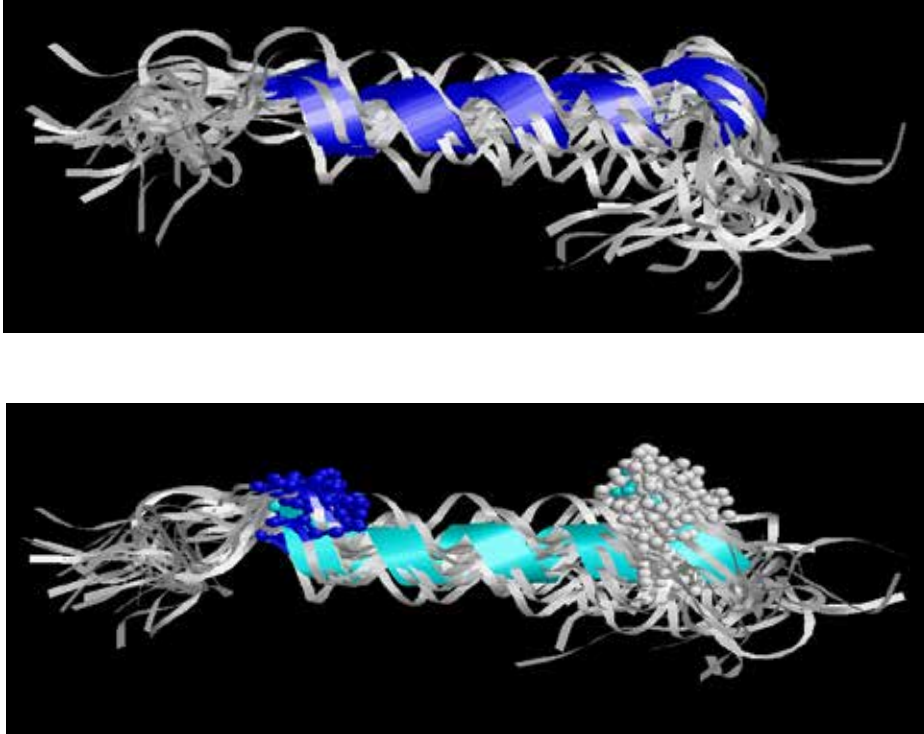


Figura 8. Estructura de la plantaricina K donde se resalta en azul oscuro la Gly-7; en azul claro Gly-25; y en verde la Gly-26. Involucradas en la acción antimicrobiana de la molécula

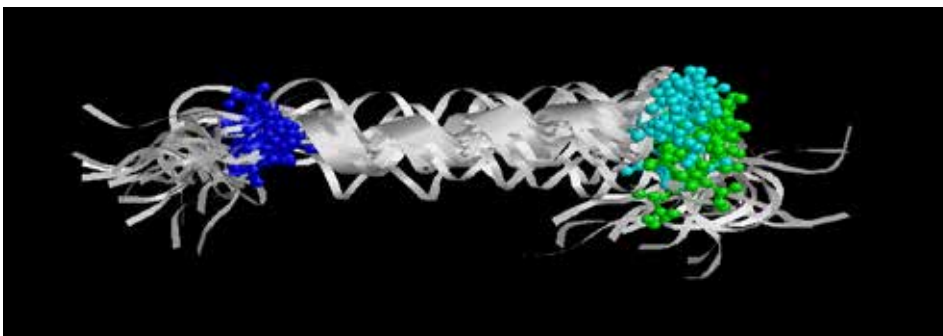


Figura 9. Estructura Plantaricina A. (Obtenido de la PDB)



Figura 10. Hélice presente en la estructura de plantaricina A

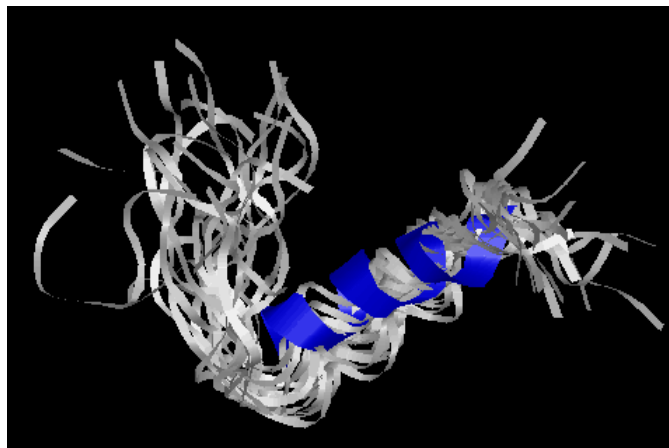


Figura 11. Estructura Glycocin F. (Obtenido de PDB)

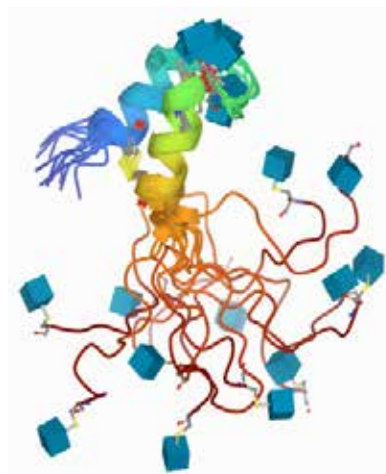


Figura 12. Molécula de N-acetilglucosamina

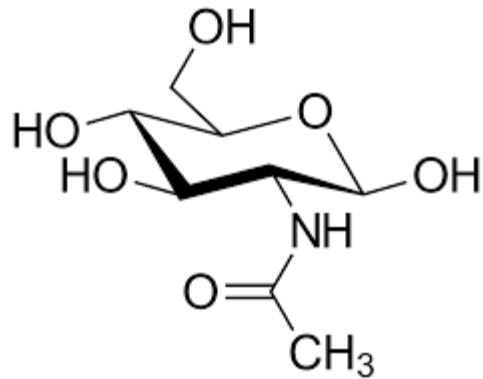


Figura 13. Hélices- α presente en Glycocin F. A) En verde se muestra el átomo de Ser-18 donde va unido un N-acetilglutamina Y en azul se muestra el Cys-46 donde va unido el segundo N-acetilglucosamina. B) En verde se muestra las dos hélices pertenecientes a la molécula, y la flecha gris señala en verde el enlace disulfuro q uno ambas hélices.

