

## Charla

## Localización y caracterización de los genes implicados en la síntesis de la bacteriocina

### Lcn972 en aislados silvestres de *Lactococcus Lactis*



Estefanía Benítez, Jose Ignacio Ibeas (1), Ana Rodríguez (2) y Beatriz Martínez (2)

(1) Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Universidad Pablo de Olavide, Carretera Utrera, km 1, 41013 Sevilla

(2) Instituto de Productos Lácteos de Asturias, IPLA-CSIC. Apdo.85. 33300 Villaviciosa, Asturias.

**Palabras clave:** Lactococina 972, Péptidoglicano, *Lactococcus Lactis*, pBL1.

#### RESUMEN

**Motivación:** Las bacteriocinas son proteínas sintetizadas por bacterias con actividad antimicrobiana frente a especies relacionadas con la cepa productora. La bacteriocina Lactococina 972 (Lcn972) inhibe la formación del septum en células en división. Su modo de acción se basa en la inhibición de la biosíntesis de péptidoglicano uniéndose de manera específica al lípido II (Martínez et al., 2000).

El espectro de actividad es bastante específico, afectando sólo a *Lactococcus* en división.

Los genes que codifican para la síntesis de Lcn 972 así como para la resistencia a la misma se encuentran en un plásmido, pBL1, de 10.9 kD. Lcn 972 es producida por *Lactococcus Lactis* IPLA 972 (Martínez et al., 1995) aunque recientemente, se han aislados nuevos productores (Alegría et al., 2010). El objetivo de este trabajo es la identificación y caracterización de los genes implicados en la síntesis de Lcn 972 en los nuevos productores aislados.

**Métodos:** Para localizar el gen estructural, se llevó a cabo un análisis del DNA plasmídico de los nuevos productores por hibridación DNA-DNA con el gen estructural de Lcn 972 y, tras el aislamiento de los plásmidos, se secuenciaron. La actividad de la bacteriocina de los diferentes productores fue examinada por el test de difusión en agar y su producción fue cuantificada mediante el método ELISA.

**Resultados:** En 4 de las 5 nuevas cepas productoras, los genes para la producción e inmunidad de Lcn 972 se localizaron en un plásmido diferente, de mayor tamaño que pBL1. Tras la secuenciación, se comprobó que tanto el gen estructural como la región promotora permanecen idénticas en todas las cepas productoras. La diferencia entre ambos plásmidos radica en la existencia de una secuencia de inserción en el de mayor tamaño. En una de las cinco nuevas cepas productoras, dichos genes se localizaron en pBL1. No se encontraron diferencias significativas en la producción ni en la actividad de la bacteriocina entre ambos plásmidos.

**Conclusiones:** Existen nuevos productores de Lcn 972. En uno de ellos, los genes para la producción e inmunidad de Lcn 972 se encuentran en pBL1. En otras cepas aisladas productoras de Lcn 972, los genes responsables se encuentran en un plásmido de mayor tamaño a pBL1. No hay diferencias contundentes de producción y actividad entre los diferentes plásmidos.

#### BIBLIOGRAFIA

- Alegría, A., Delgado, S., Rocas, C., López, B., Mayo, B. (2010) Bacteriocins produced by wild *Lactococcus Lactis* strains isolated from traditional, starter-free cheese made of raw milk. *Int J Food Microbiol.*, 143: 61-66
- Martínez, B., Rodríguez, A., Suárez, J.E. (2000) Lactococcin 972, a bacteriocin that inhibits septum formation in *Lactococci*. *Microbiology-sgm*, 146: 949-955.
- Martínez, B., Suárez, J.E., Rodríguez, A. (1995) Antimicrobial produced by wild lactococcal strains isolated from homemade cheese. *Journal of Food Protection*, 58: 1118-1123.