

# De la lisis a la exhibición: endolisinas de fagos de BAL como herramientas biotecnológicas para decorar bacterias con funciones a medida

Tania B Gordillo, Iara G Jastrebow, M Mercedes Palomino

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires - Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, IQUIBICEN) - CONICET, Ciudad Universitaria, CABA, C1428EGA, Argentina

Recibido:

**Recibido en:** 20/11/2025

| Aceptado:

**Aceptado en:** 05/12/2025

Contacto: M Mercedes Palomino - mechipalomino@gmail.com

## Resumen

Las endolisinas son enzimas responsables de degradar la pared celular bacteriana, paso esencial para la liberación de nuevas partículas virales producidas por los bacteriófagos. En el caso de los fagos que infectan bacterias ácido lácticas (BAL), la marcada afinidad de estas enzimas por los componentes de la envoltura bacteriana las convierte en herramientas biotecnológicas particularmente prometedoras. Su estructura modular, formada por un dominio catalítico (EAD) y un dominio de unión a la pared celular (CBD), permite combinar funciones y crear variantes quimeras con nuevas especificidades. Además, esta arquitectura les otorga una notable flexibilidad funcional, permitiendo su reingeniería para fines antimicrobianos, diagnósticos y biotecnológicos. En el ámbito alimentario, se han aplicado exitosamente al control de biofilms, la bioconservación de carnes, lácteos y vegetales, y el desarrollo de biosensores basados en dominios CBD para la detección rápida de patógenos. Más recientemente, los CBDs derivados de endolisinas están siendo aprovechados como anclas naturales para la exhibición superficial de proteínas heterólogas en BAL, lo que permite funcionalizarlas sin recurrir a modificaciones genéticas. Esto ofrece una estrategia innovadora para desarrollar probióticos funcionales de nueva generación, vacunas orales y sistemas terapéuticos seguros.

**Palabras clave:** Endolisinas, Bacterias ácido lácticas, exhibición proteínas heterólogas

## Abstract

Endolysins are phage-encoded enzymes that hydrolyze the bacterial cell wall to facilitate the release of newly assembled viral progeny. In bacteriophages infecting lactic acid bacteria (LAB), these enzymes exhibit a pronounced affinity for cell envelope components, positioning them as promising biotechnological tools. Their modular architecture, typically composed of an enzymatically active domain (EAD) and a cell

wall-binding domain (CBD), enables the combination of distinct functional modules and the generation of chimeric variants with tailored specificities. This structural versatility underlies their reengineering for diverse applications in antimicrobial therapy, diagnostics, and industrial biotechnology. Within the food and fermentation sectors, endolysins have been successfully employed for biofilm control, biopreservation of meat, dairy, and vegetable products, and the development of CBD-based biosensors for rapid pathogen detection. More recently, CBDs derived from endolysins have been harnessed as natural anchoring modules for the surface display of heterologous proteins in LAB, providing a genetic modification-free and innovative strategy for the development of next-generation functional probiotics, oral vaccines, and safe therapeutic delivery platforms.

**Keywords:** Endolysins, Lactic acid bacteria, Heterologous protein display

## ¿Qué son las endolisinas de fagos de BAL?

Desde hace siglos, las bacterias ácido lácticas (BAL) se utilizan ampliamente en la fermentación de alimentos, así como en la producción de compuestos de alto valor agregado. Muchas de ellas son consideradas GRAS (“*generally recognized as safe*”), es decir, generalmente reconocidas como seguras por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos). Además, numerosas cepas de BAL habitan de forma natural las superficies mucosas de humanos y animales, siendo parte fundamental de los microbiomas intestinal y vaginal. Adicionalmente, algunas de ellas son probióticas, o “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del hospedador” según la definición clásica formulada por la OMS [1]. En los últimos años, las BAL y especialmente las bacterias del grupo de los lactobacilos, han despertado gran interés como plataformas naturales para la exposición de proteínas en su superficie, abriendo nuevas posibilidades en aplicaciones industriales, alimentarias y biomédicas, como la entrega oral de vacunas o proteínas terapéuticas.

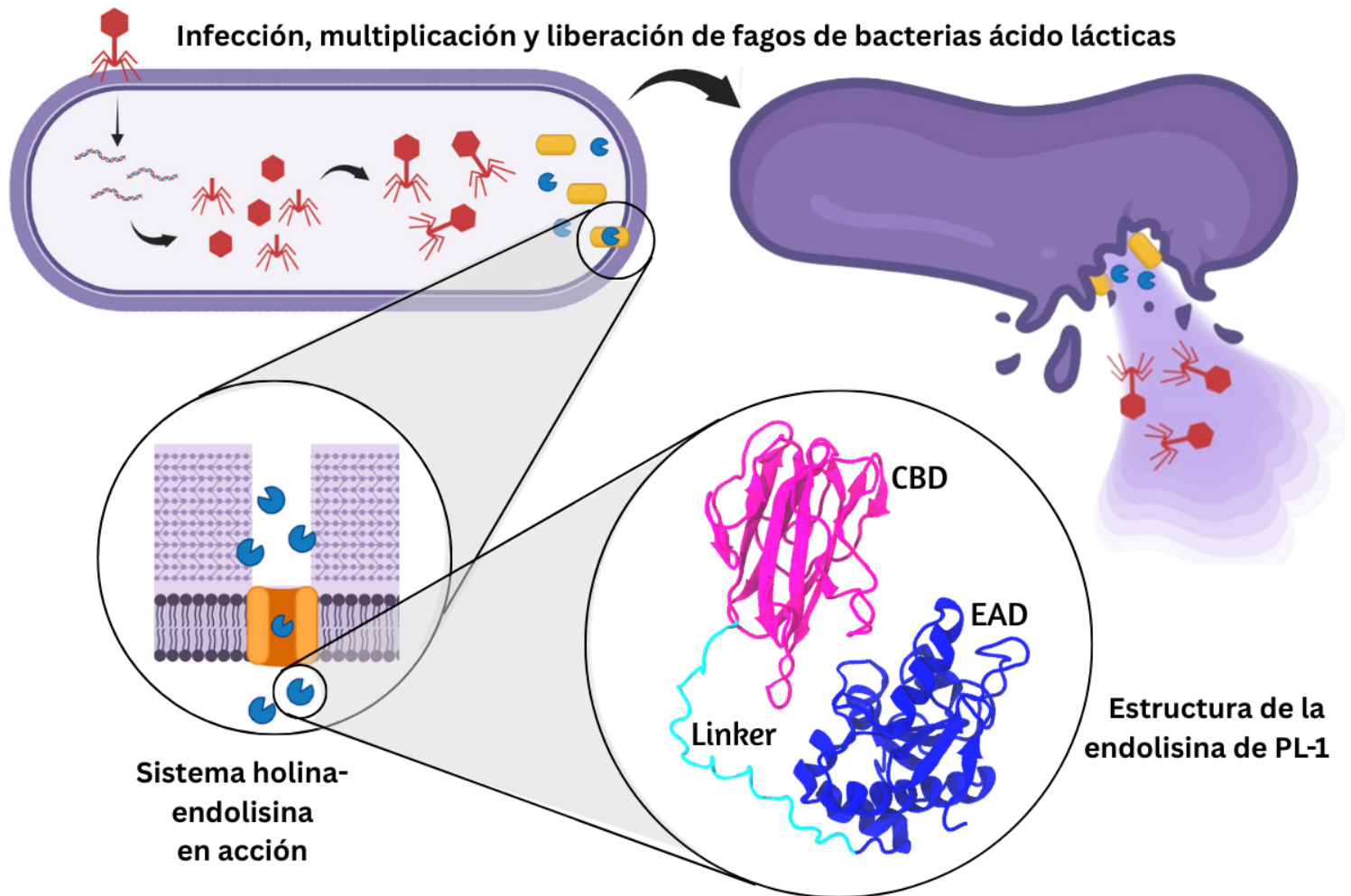
Las endolisinas, o lisinas de fagos, son enzimas producidas al final del ciclo replicativo de los bacteriófagos que degradan el peptidoglicano de la pared celular bacteriana para liberar las nuevas partículas virales. Este proceso forma parte del sistema lítico desarrollado por los fagos, que involucra la acción coordinada de dos tipos de proteínas: holinas y endolisinas. Las holinas perforan la membrana citoplasmática de la bacteria, permitiendo el acceso de las endolisinas al peptidoglicano, que lo degradan desde el interior, provocando finalmente la lisis celular (Figura 1).

En los fagos que infectan bacterias Gram-positivas —entre ellas las bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus*, *Lactocaseibacillus* y *Lactococcus*—, las endolisinas presentan una marcada afinidad por los componentes de la envoltura celular, lo que las convierte en candidatas ideales para su aplicación en sistemas biotecnológicos [2, 3]. Estas endolisinas poseen una organización modular bien definida, compuesta por tres regiones principales:

- Un **dominio catalítico activo** (EAD, *enzymatically active domain*), localizado típicamente en el extremo N-terminal, que cataliza la ruptura de enlaces específicos del peptidoglicano, como N-acetilmuramidasa, glucosaminidasa, amidasa o endopeptidasa [4, 5].
- Un **dominio de unión a la pared celular** (CBD, *cell wall binding domain*), situado generalmente en el extremo C-terminal, que reconoce con alta especificidad componentes estructurales como

carbohidratos, proteínas asociadas al peptidoglicano o polímeros secundarios de pared, anclando la enzima al sitio de acción [6].

- Una **región flexible de enlace** ("*linker*") que conecta los módulos y permite su movilidad estructural. En algunos casos, las endolisinas presentan múltiples EADs o CBDs, o arquitecturas aún más complejas [7].



**Figura 1:** Representación gráfica de un típico proceso de infección, multiplicación y liberación de bacteriófagos líticos de bacterias ácido lácticas. Incluye detalle sobre el modo de acción del sistema holina-endolisina y, como ejemplo, la estructura de la endolisina del fago PL-1, generada con Alpha Fold 3 [8].

Estas enzimas, pueden inducir lisis de manera exógena sobre bacterias susceptibles en ausencia del fago y han demostrado potencial terapéutico tanto *in vitro* como *in vivo*. Además, la función de cada módulo es complementaria y sinérgica: mientras el CBD dirige la enzima hacia el blanco bacteriano con alta afinidad y especificidad, el EAD ejecuta la hidrólisis del peptidoglicano. Esta modularidad funcional posibilita el intercambio o rediseño de dominios para generar variantes o quimeras con nuevas especificidades o actividades ampliadas, ofreciendo un marco flexible para la ingeniería racional de endolisinas con fines biotecnológicos y terapéuticos [5].

### Aplicaciones biotecnológicas de las endolisinas

Las endolisinas han cobrado una creciente relevancia como herramientas versátiles en biotecnología, medicina y la industria alimentaria, debido a su especificidad y modularidad funcional. Una de las

principales aplicaciones reside en el control dirigido de bacterias sensibles, actuando como enzibióticos con propiedad antimicrobiana altamente específicos capaces de lisar rápidamente bacterias patógenas, lo que las posiciona como alternativas promisorias a los antibióticos tradicionales en salud humana y animal [9]. Numerosos estudios han demostrado su actividad de amplio espectro contra bacterias Gram- positivas, incluyendo endolisinas como Pal, derivada de un fago neumocócico, capaz de erradicar 15 serotipos prevalentes de *Streptococcus pneumoniae* resistentes a penicilina [10] y phi11, con potente acción frente a diversas especies de *Staphylococcus*, entre ellas *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* [11]. Otras endolisinas, como ClyR, ClyJ, ClyV, ClyC, SAL200, LysK y Cpl-1, también han mostrado eficacia frente a Gram-positivas [12–16]. Más recientemente, se han identificado endolisinas activas contra bacterias Gram-negativas multirresistentes, como LysAB54, LysP53 y LysPA26, con acción sobre *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* [17–19].

A diferencia de los antibióticos convencionales, las endolisinas no alteran significativamente la microbiota natural del hospedador, preservando el equilibrio microbiano que actúa como barrera protectora frente a patógenos [19, 20]. Su especificidad reduce el riesgo de disbiosis y de transferencia de genes de resistencia, ofreciendo así una alternativa más segura. Además, pueden estimular el sistema inmune sin neutralizar su propia acción antimicrobiana [21]. Estas propiedades convierten a las endolisinas en una alternativa innovadora a los antibióticos de amplio espectro, con aplicaciones potenciales tanto en salud humana como en biotecnología alimentaria.

En este último aspecto, las endolisinas se han consolidado como herramientas versátiles para mejorar la seguridad alimentaria, con aplicaciones que van desde el control de biofilms hasta la detección rápida de patógenos alimentarios. Los biofilms bacterianos, estructuras organizadas que confieren alta resistencia a desinfectantes y antibióticos, representan un desafío persistente en la industria alimentaria [22]. Diversas endolisinas como LysCSA13, phi11, Lys109, LysP108, XZ.700 y LysK, han demostrado eliminar biofilms de *Staphylococcus aureus* en acero inoxidable, vidrio y poliestireno [23], mientras que otras, como PlyLM, 293-amidasa y Lys68, ejercen su acción contra *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* [24, 25].

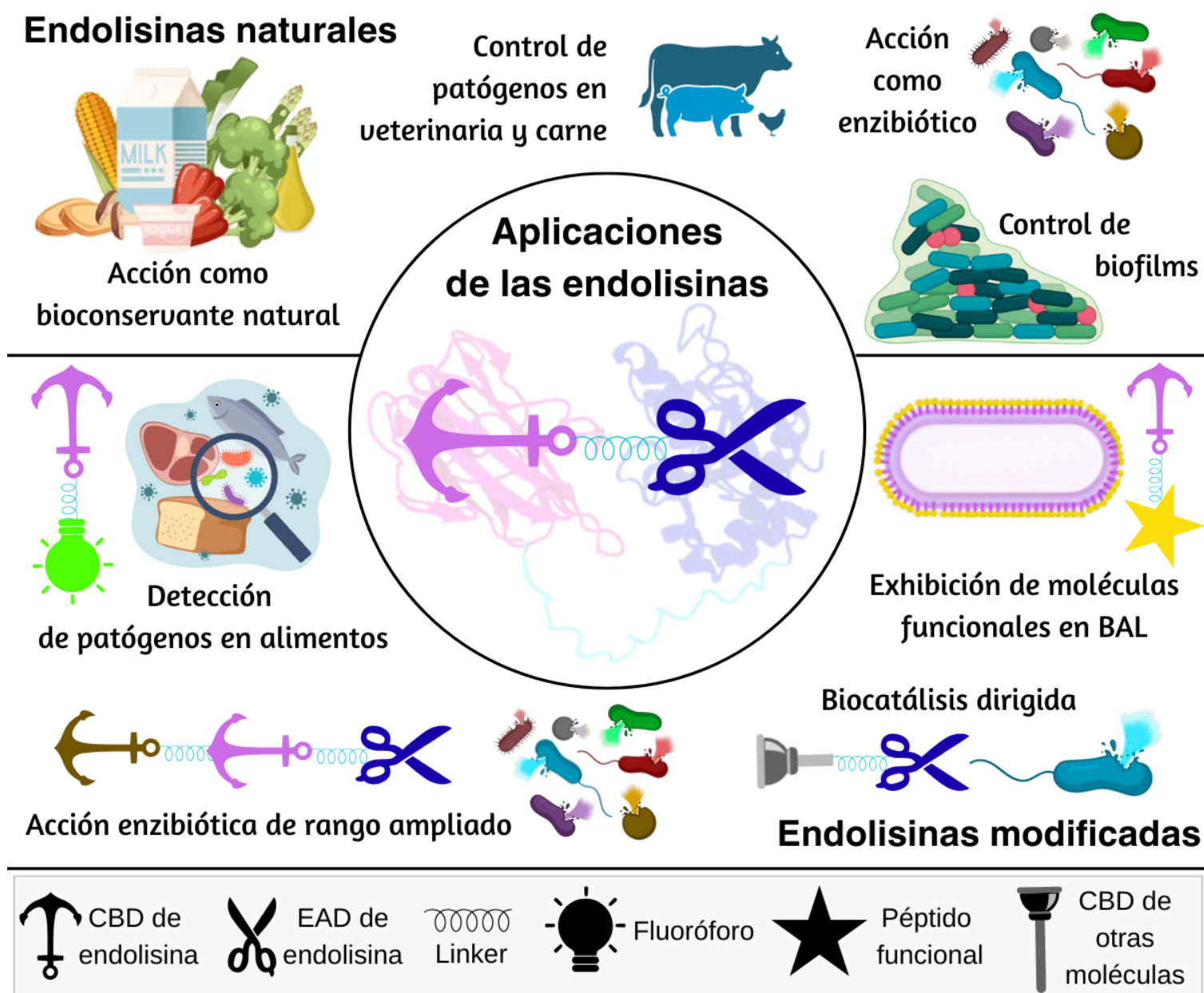
En el ámbito veterinario y cárnico, las endolisinas ofrecen alternativas al uso de antibióticos en producción animal, reduciendo el riesgo de transmisión de bacterias resistentes. Ejemplos notables incluyen phiSM101, eficaz contra *Clostridium perfringens*, y LysSE24, activa frente a *Salmonella* en aves [26, 27]. La carne es un importante vehículo de infecciones transmitidas por alimentos. La endolisina LysSA11 mostró una reducción de 3 log UFC/mL de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) en jamón almacenado a temperatura de refrigeración (4 °C) [28]. Por su parte, la endolisina Trx-SA1 redujo eficazmente la presencia de *S. aureus* en ubres bovinas, pudiendo emplearse como un bioconservante alternativo para minimizar la contaminación por este microorganismo durante el almacenamiento de productos alimenticios [29]. En productos lácteos y vegetales, múltiples endolisinas, como LysH5, LysSA97, LysZ5 y PlyP100, han demostrado eliminar *Listeria* en leche y quesos [30] e incluso prevenir el “late blowing” (hinchamiento por acumulación de gases en el interior) en quesos duros causado por *Clostridium tyrobutyricum* [31]. En vegetales, endolisinas como LysP53 y cpp-lys reducen *Salmonella* y *Clostridium perfringens* en lechuga, actuando como bioconservantes naturales [32, 33].

Por otro lado, y más allá de la función lítica, los dominios de unión a pared celular (CBD) derivados de endolisinas están revolucionando la detección rápida de patógenos alimentarios. Los CBD fusionados a proteínas fluorescentes permiten identificar especies específicas con una sensibilidad comparable a la de los anticuerpos, como en el caso de *Listeria* y *Staphylococcus aureus* en leche y quesos [34, 35]. Su alta

especificidad, estabilidad y seguridad posicionan a las endolisinas y sus CBD como biocontroladores y biosensores de nueva generación, con un enorme potencial en la biotecnología alimentaria moderna (Figura 2).

La modularidad estructural de las endolisinas también ha impulsado el diseño de proteínas quiméricas, en las que se combinan dominios EAD y CBD provenientes de diferentes fagos para modificar la especificidad o ampliar el rango de acción. Esta capacidad de “reensamblar” módulos funcionales convierte a las endolisinas en una valiosa plataforma de ingeniería de proteínas, aplicable tanto en control bacteriano como en biocatálisis dirigida [36].

Finalmente, en contextos alimentarios y probióticos, las endolisinas se están integrando en estrategias innovadoras para el control microbiano en matrices fermentadas y para la exhibición superficial de moléculas funcionales en BAL. Su compatibilidad con bacterias lácticas y la posibilidad de utilizar sus dominios CBD como anclas superficiales las convierte en aliadas naturales para el desarrollo de productos funcionales seguros y libres de OGM y que discutiremos en la próxima sección.



**Figura 2:** Resumen gráfico de las diversas aplicaciones de endolisinas, tanto las encontradas en la naturaleza, como moléculas derivadas de ellas, aprovechando su modularidad.

## Dominio CBD como carrier para la exposición de péptidos/proteínas funcionales en BAL

Una de las estrategias más innovadoras en biotecnología alimentaria es aprovechar el dominio de unión a pared celular de las endolisinas para la exhibición de proteínas heterólogas en la superficie de bacterias ácido lácticas. En este enfoque, el CBD actúa como un ancla altamente específica: se une con gran afinidad a la pared de una cepa BAL, mientras que la proteína funcional que puede ser por ejemplo una enzima, un antígeno o una proteína terapéutica se fusiona al CBD. En una primera instancia, la validación de la capacidad de anclaje suele realizarse utilizando proteínas de fusión que incorporan un reportero fluorescente, como GFP, lo que permite visualizar y cuantificar la unión a la superficie bacteriana.

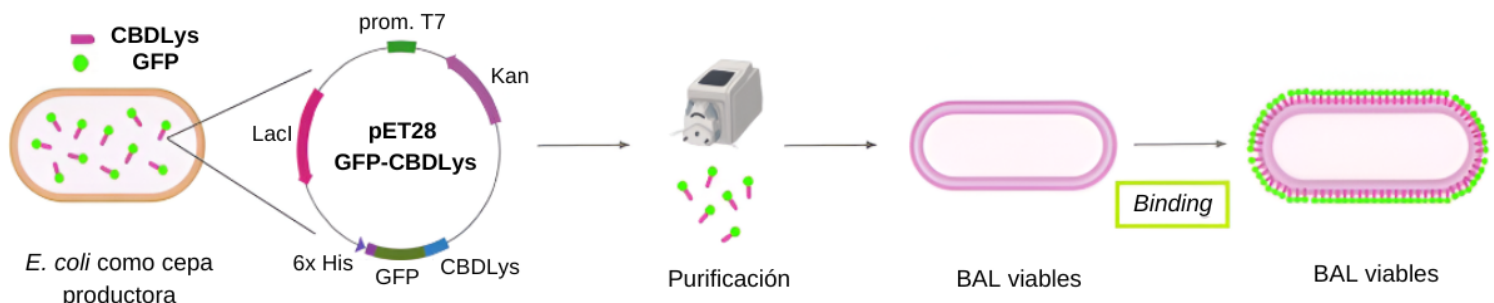
Estas proteínas de fusión se producen en sistemas heterólogos de *Escherichia coli* y posteriormente se emplean para recubrir la superficie celular de las bacterias ácido lácticas *in vitro*. De esta forma, la proteína funcional queda expuesta en alta densidad sobre la superficie bacteriana, sin necesidad de modificar genéticamente la cepa, preservando así su carácter probiótico y su estatus de seguridad alimentaria (Figura 3). Finalmente se obtiene una formulación bacteriana con una arquitectura que presenta múltiples ventajas:

### *Alta especificidad de unión del CBD al huésped BAL:*

Lo que permite una “decoración” eficiente, localizada y estable de la superficie bacteriana. Por ejemplo, se ha demostrado que ciertos CBDs de endolisinas de fagos Gram-positivos reconocen blancos específicos de la superficie bacteriana (peptidoglicano, polisacáridos secundarios de pared celular y proteínas) con afinidad comparable o incluso superior a anticuerpos [37].

### *Modularidad:*

El CBD puede fusionarse de forma relativamente sencilla con una proteína heteróloga, formando un constructo “CBD–proteína funcional” sin alterar el genoma de la BAL, lo que facilita el diseño de plataformas variadas y adaptables. La ingeniería de diseño de estas proteínas quiméricas se lleva a cabo generalmente en sistemas heterólogos de *Escherichia coli*, donde se produce y purifica la proteína recombinante antes de su aplicación sobre las bacterias ácido lácticas. En una etapa posterior, el constructo purificado se incuba con las BAL, permitiendo el anclaje específico por medio del dominio CBD a los componentes de la pared celular y la exhibición superficial controlada de la proteína funcional en alta densidad, sin necesidad de modificar genéticamente las cepas utilizadas [1].



**Figura 3:** Esquema del sistema de exhibición de proteínas heterólogas en la superficie de BAL. El método se basa en la producción recombinante en *E. coli* de proteínas de fusión que combina un gen reportero (GFP) con el dominio de unión a pared de la endolisina del fago PL-1 (CBDLys). Luego de la purificación de la proteína recombinante, ésta se incuba con BAL viables en un típico ensayo de binding, donde el CBD interactúa específicamente con componentes del peptidoglicano. El resultado es una población de BAL funcionalizadas externamente con proteínas heterólogas,



aptas para aplicaciones biotecnológicas (adaptado de [38]).

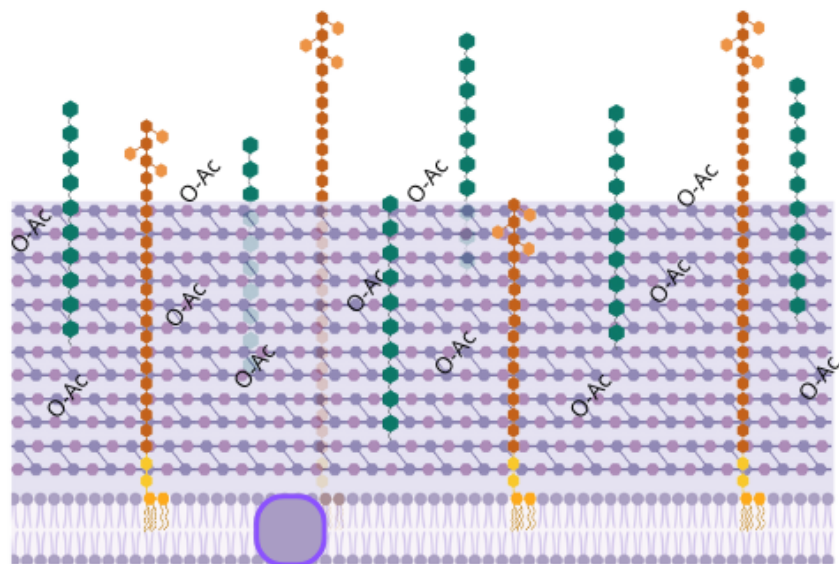
### *Compatibilidad con BAL como vehículo:*

Muchas bacterias ácido lácticas son reconocidas como seguras en alimentos y ampliamente utilizadas como cepas probióticas. Al exhibir proteínas funcionales en su superficie, no solo se mantienen sus características tecnológicas y de seguridad alimentaria, sino que además se conservan sus propiedades biológicas inherentes (como la viabilidad, la tolerancia a las condiciones gastrointestinales, la capacidad de colonización intestinal, la exclusión competitiva de patógenos y la inmunomodulación). Esta combinación convierte a las BAL en vehículos naturales y biocompatibles para la administración oral de proteínas/péptidos bioactivos o para la funcionalización de alimentos fermentados, permitiendo el desarrollo de productos con beneficios adicionales para la salud sin comprometer su condición de microorganismos seguros.

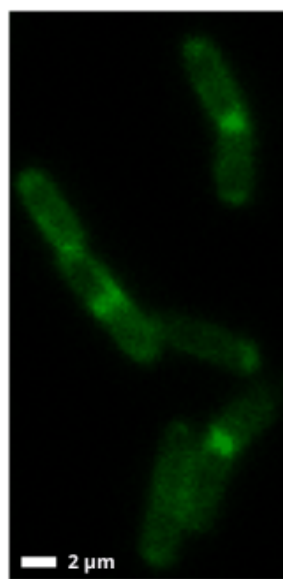
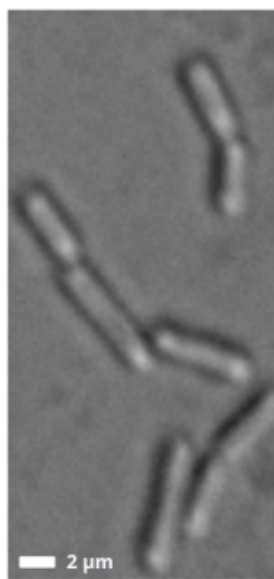
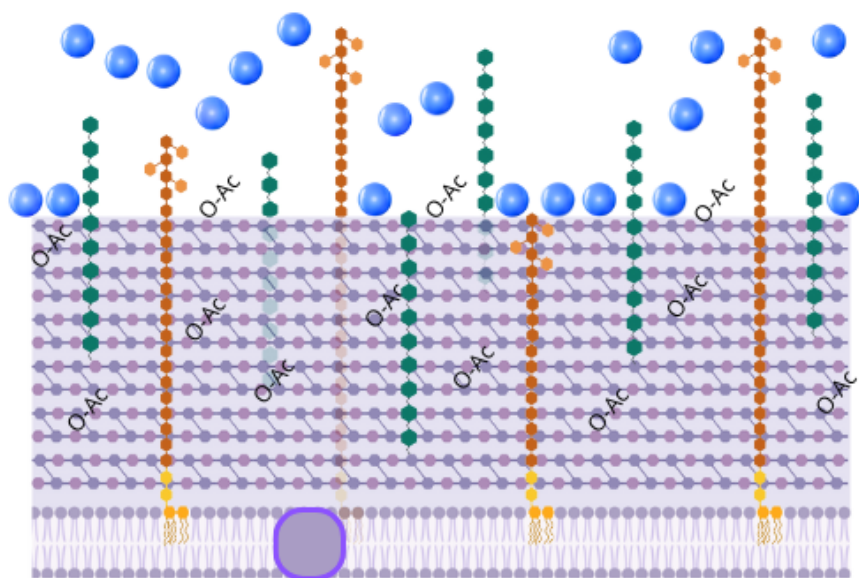
### *La no utilización de organismos genéticamente modificados (OGM):*

En el contexto alimentario y de probióticos, la percepción y la normativa respecto a organismos genéticamente modificados pueden suponer barreras. La estrategia de usar un dominio CBD recombinante para “decorar” BAL de manera exógena sin alterar su genoma evita que la cepa sea considerada un OGM. Esto facilita la aceptación regulatoria, reduce la necesidad de certificaciones prolongadas y complejas y aumenta la viabilidad comercial del sistema. Se mantiene la “naturalidad” de la cepa probiótica o fermentativa, lo que se traduce en una ventaja en el sector de alimentos funcionales.

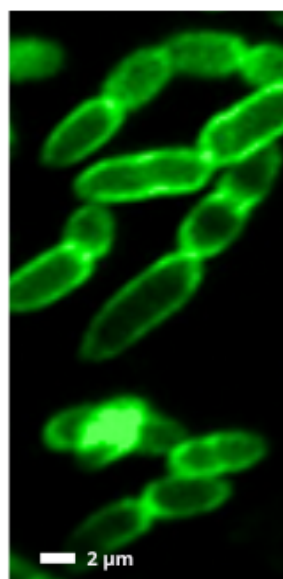
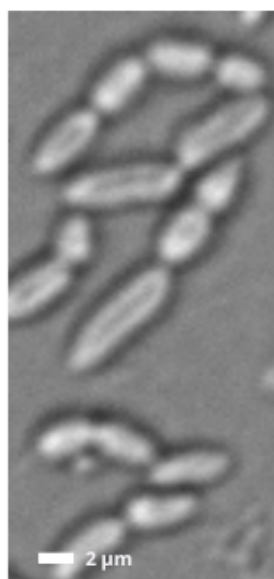
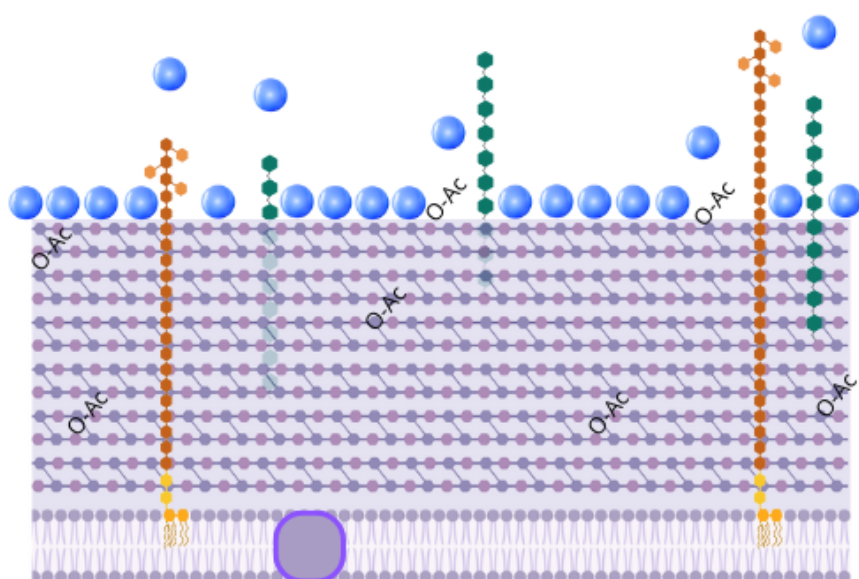
En este contexto, nuestro grupo de investigación ha desarrollado y caracterizado un sistema basado en el dominio de unión a pared celular (CBDLys) de la endolisina del fago PL-1 como plataforma de anclaje para la exhibición superficial de proteínas funcionales en BAL sin modificación genética [1]. Los resultados han demostrado una alta capacidad de unión del CBDLys a la superficie de *Lacticaseibacillus paracasei* ATCC 27092, con aproximadamente  $7 \times 10^6$  moléculas unidas por célula, lo que confirma la eficiencia del anclaje de manera no covalente. Además, observamos que el precrecimiento de la cepa bajo condiciones de estrés osmótico produjo modificaciones estructurales en la envoltura celular, traducidas en una reducción en los niveles de ácidos lipoteicoicos y polisacáridos, junto con una menor O-acetilación del peptidoglicano, siendo este último el blanco principal de unión de CBDLys. Los cambios a nivel de envoltura bacteriana conllevan a aumentar la accesibilidad de los sitios de unión del CBD, optimizando la eficiencia del anclaje sin afectar la viabilidad celular (Figura 4). En contraste con tratamientos agresivos, como el uso de ácido tricloroacético (TCA) [39], que eliminan componentes de la pared celular y aumentan la unión de los dominios ancla pero a costa de destruir la célula, el precrecimiento en condiciones de estrés osmótico (0.75 M NaCl) demostró ser una alternativa segura y eficaz. Este tratamiento permitió incrementar casi tres veces la capacidad de anclaje del dominio CBDLys, manteniendo la integridad estructural y la viabilidad de las bacterias ácido lácticas. Además, nuestra estrategia mostró alcance en otras cepas con características probióticas o potencialmente probióticas. El CBDLys se unió eficazmente no solo a *Lacticaseibacillus paracasei* ATCC 27092, sino también a *Lactiplantibacillus plantarum*, *Latilactobacillus sakei* y *Lacticaseibacillus casei*, aunque con menor afinidad en cepas con capas protectoras de S-layer o exopolisacáridos como *Lactobacillus acidophilus* y *Lactococcus lactis*.



Control



Control + 



NaCl + 



Membrana celular



Lipoproteínas



Peptidoglicano



Ácido lipoteicoico (LTA)



Polisacáridos de pared



Proteína de fusión (CBDLys-GFP)



O-acetilaciones



**Figura 4:** Representación gráfica de la adhesión de GFP-CBDLys y la variación de la estructura de pared de *Lactocaseibacillus paracasei* ATCC 27092 entre condiciones control y de estrés salino. Cada representación se encuentra acompañada por las imágenes correspondientes de microscopía confocal (de contraste de fase y de fluorescencia). Se observa un considerable aumento de la fluorescencia al realizar el ensayo de binding sobre bacterias pre-crecidas en condiciones de estrés salino.

La estrategia de pre-crecimiento en NaCl representa una herramienta simple, segura y biocompatible para optimizar la unión del dominio ancla a la superficie de las BAL. A diferencia de otros tratamientos químicos que comprometen la integridad celular, la exposición moderada a sales genera una respuesta adaptativa osmótica que modifica de manera controlada la estructura de la envoltura bacteriana, sin afectar la viabilidad ni el estatus seguro de las cepas. Esta adaptación incrementa la accesibilidad del peptidoglicano al dominio de unión CBD de la endolisina mejorando significativamente la eficiencia del anclaje.

Por otra parte, recordemos que los lactobacilos son habitantes importantes de la microflora normal del tracto gastrointestinal, y algunas cepas han sido seleccionadas como cultivos probióticos. Una propiedad importante de estos microorganismos es su capacidad para interactuar con células epiteliales en el tracto intestinal, lo que puede promover la retención y la comunicación entre el huésped y las bacterias. En este contexto, hemos evaluado la capacidad de adhesión a mucinas, principal componente del moco intestinal, como un modelo in vitro que permite estimar el potencial de interacción de las bacterias con la mucosa y predecir su capacidad de colonización y permanencia en el entorno gastrointestinal. Los resultados mostraron que los lactobacilos mantuvieron una adhesión comparable entre las condiciones control y decorada con la proteína ancla, lo que indica que la decoración superficial no afecta su capacidad de unión. Este hallazgo es alentador, ya que la adhesión a mucinas es una característica funcional deseable en probióticos, y sugiere que la proteína ancla podría emplearse para fusionar otras proteínas funcionales sin comprometer dicha propiedad [38].

En conjunto, este enfoque que combina el uso de CBDLys y la adaptación osmótica se consolida como una estrategia innovadora y segura para mejorar la exhibición superficial en BAL, con potencial aplicación en el diseño de probióticos funcionales, sistemas de entrega oral de proteínas y vacunas dentro de un marco no OGM.

## Conclusión

Las endolisinas de fagos de BAL presentan una arquitectura modular que puede aprovecharse mucho más allá de su función lítica natural. En particular, el dominio CBD se perfila como una herramienta versátil para la exhibición de proteínas heterólogas en la superficie de BAL. En conjunto, esta estrategia transforma cepas probióticas en plataformas vivas funcionales con un valor agregado que trasciende sus propiedades probióticas tradicionales, sin requerir modificación genética, y abre nuevas posibilidades para el desarrollo de alimentos inteligentes, probióticos de nueva generación y sistemas seguros de entrega de vacunas o proteínas terapéuticas. El futuro de este campo es claramente prometedor: la convergencia entre biología molecular, microbiología de BAL y biotecnología alimentaria será decisiva para llevar estas innovaciones desde el laboratorio hasta su aplicación industrial y clínica.

## Bibliografía

1. **Gordillo TB, Jastrebow IG, De Rossi MC, Da Silva Lima CH, Bockor SS, Allievi MC, et al.** (2025) Phage PL-1 endolysin and osmotic stress as tools to enhance heterologous protein display in lactic acid bacteria platforms. *Int J Biol Macromol* 320: 145886.
2. **Dorosky RJ, Lola SL, Brown HA, Schreier JE, Dreher-Lesnack SM, and Stibitz S.** (2023) Characterization of Lactobacilli Phage Endolysins and Their Functional Domains-Potential Live Biotherapeutic Testing Reagents. *Viruses* 15 DOI: 10.3390/v15101986.

3. **Mokhtari S, Li Y, Saris PEJ, and Takala TM.** (2024) Analysis of the cell wall binding domain in bacteriocin-like lysin LysL from *Lactococcus lactis* LAC460. *Arch Microbiol* 206: 336.
4. **Rodríguez-Rubio L, Gutiérrez D, Donovan DM, Martínez B, Rodríguez A, and García P.** (2016) Phage lytic proteins: biotechnological applications beyond clinical antimicrobials. *Crit Rev Biotechnol* 36: 542–552.
5. **Liu H, Hu Z, Li M, Yang Y, Lu S, and Rao X.** (2023) Therapeutic potential of bacteriophage endolysins for infections caused by Gram-positive bacteria. *J Biomed Sci* 30: 29.
6. **Santos SB, Oliveira A, Melo LDR, and Azeredo J.** (2019) Identification of the first endolysin Cell Binding Domain (CBD) targeting *Paenibacillus* larvae. *Sci Rep* 9: 2568.
7. **Oechslin F, Menzi C, Moreillon P, and Resch G.** (2021) The multidomain architecture of a bacteriophage endolysin enables intramolecular synergism and regulation of bacterial lysis. *J Biol Chem* 296: 100639.
8. **Abramson J, Adler J, Dunger J, Evans R, Green T, Pritzel A, et al.** (2024) Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature* 630: 493–500.
9. **Khan FM, Rasheed F, Yang Y, Liu B, and Zhang R.** (2024) Endolysins: a new antimicrobial agent against antimicrobial resistance. Strategies and opportunities in overcoming the challenges of endolysins against Gram-negative bacteria. *Front. Pharmacol.* 15: 1385261.
10. **Loeffler JM, Nelson D, and Fischetti VA.** (2001) Rapid killing of *Streptococcus pneumoniae* with a bacteriophage cell wall hydrolase. *Science* 294: 2170–2172.
11. **Donovan DM, Lardeo M, and Foster-Frey J.** (2006) Lysis of staphylococcal mastitis pathogens by bacteriophage phi11 endolysin. *FEMS Microbiol. Lett.* 265: 133–139.
12. **Yang H, Linden SB, Wang J, Yu J, Nelson DC, and Wei H.** (2015) A chimeolysin with extended-spectrum streptococcal host range found by an induced lysis-based rapid screening method. *Sci Rep* 5: 17257.
13. **Bae JY, Jun KI, Kang CK, Song K-H, Choe PG, Bang J-H, et al.** (2019) Efficacy of Intranasal Administration of the Recombinant Endolysin SAL200 in a Lethal Murine *Staphylococcus aureus* Pneumonia Model. *Antimicrob Agents Chemother* 63 DOI: 10.1128/AAC.02009-18.
14. **Gondil VS, Harjai K, and Chhibber S.** (2020) Endolysins as emerging alternative therapeutic agents to counter drug-resistant infections. *Int J Antimicrob Agents* 55: 105844.
15. **Huang L, Luo D, Gondil VS, Gong Y, Jia M, Yan D, et al.** (2020) Construction and characterization of a chimeric lysin ClyV with improved bactericidal activity against *Streptococcus agalactiae* in vitro and in vivo. *Appl Microbiol Biotechnol* 104: 1609–1619.
16. **Li X, Wang S, Nyaruaba R, Liu H, Yang H, and Wei H.** (2021) A highly active chimeric lysin with a calcium-enhanced bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* in vitro and in vivo. *Antibiotics (Basel)* 10: 461.
17. **Guo M, Feng C, Ren J, Zhuang X, Zhang Y, Zhu Y, et al.** (2017) A Novel Antimicrobial Endolysin, LysPA26, against *Pseudomonas aeruginosa*. *Front. Microbiol.* 8: 293.
18. **Khan FM, Gondil VS, Li C, Jiang M, Li J, Yu J, et al.** (2021) A Novel Bacteriophage Endolysin LysAB54 With High Antibacterial Activity Against Multiple Gram-Negative Microbes. *Front Cell Infect Microbiol* 11: 637313.
19. **Li C, Jiang M, Khan FM, Zhao X, Wang G, Zhou W, et al.** (2021) Intrinsic Antimicrobial Peptide Facilitates a New Broad-Spectrum Lysin LysP53 to Kill In Vitro and in a Mouse Burn Infection Model. *ACS Infect Dis* 7: 3336–3344.
20. **Wang B, Yao M, Lv L, Ling Z, and Li L.** (2017) The human Microbiota in health and disease. *Engineering (Beijing)* 3: 71–82.
21. **Imanishi I, Uchiyama J, Tsukui T, Hisatsune J, Ide K, Matsuzaki S, et al.** (2019) Therapeutic potential of an endolysin derived from kayvirus S25-3 for staphylococcal impetigo. *Viruses* 11: 769.
22. **Abee T, Kovács AT, Kuipers OP, and van der Veen S.** (2011) Biofilm formation and dispersal in Gram-positive bacteria. *Curr Opin Biotechnol* 22: 172–179.
23. **Lu Y, Wang Y, Wang J, Zhao Y, Zhong Q, Li G, et al.** (2021) Phage Endolysin LysP108 Showed Promising Antibacterial Potential Against Methicillin-resistant. *Front Cell Infect Microbiol* 11: 668430.
24. **Simmons M, Morales CA, Oakley BB, and Seal BS.** (2012) Recombinant Expression of a Putative Amidase Cloned from the Genome of *Listeria monocytogenes* that Lyses the Bacterium and its Monolayer in Conjunction with a Protease. *Probiotics Antimicrob Proteins* 4: 1–10.
25. **Pennone V, Sanz-Gaitero M, O'Connor P, Coffey A, Jordan K, van Raaij MJ, et al.** (2019) Inhibition of *L. monocytogenes* biofilm formation by the amidase domain of the phage vB\_LmoS\_293 endolysin. *Viruses* 11: 722.
26. **Tamai E, Yoshida H, Sekiya H, Nariya H, Miyata S, Okabe A, et al.** (2014) X-ray structure of a novel endolysin encoded by episomal phage phiSM101 of *Clostridium perfringens*. *Mol Microbiol* 92: 326–337.
27. **Ding Y, Zhang Y, Huang C, Wang J, and Wang X.** (2020) An endolysin LysSE24 by bacteriophage LPSE1 confers specific bactericidal activity against multidrug-resistant *Salmonella* strains. *Microorganisms* 8: 737.
28. **Chang Y, Kim M, and Ryu S.** (2017) Characterization of a novel endolysin LysSA11 and its utility as a potent biocontrol agent against *Staphylococcus aureus* on food and utensils. *Food Microbiol* 68: 112–120.
29. **Fan J, Zeng Z, Mai K, Yang Y, Feng J, Bai Y, et al.** (2016) Preliminary treatment of bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus*, with trx-SA1, recombinant endolysin of *S. aureus* bacteriophage IME-SA1. *Vet Microbiol* 191: 65–71.

30. **Van Tassell ML, Ibarra-Sánchez LA, Hoepker GP, and Miller MJ.** (2017) Hot topic: Antilisterial activity by endolysin PlyP100 in fresh cheese. *J Dairy Sci* 100: 2482–2487.
31. **Mayer MJ, Payne J, Gasson MJ, and Narbad A.** (2010) Genomic sequence and characterization of the virulent bacteriophage phiCTP1 from *Clostridium tyrobutyricum* and heterologous expression of its endolysin. *Appl Environ Microbiol* 76: 5415–5422.
32. **Li C, Nyaruaba R, Zhao X, Xue H, Yang H, Li Y, et al.** (2023) LysP53 activity against *Salmonella* and its application in decontamination of *Salmonella* on fresh romaine lettuce. *Appl Microbiol Biotechnol* 107: 5403–5413.
33. **Zhao X, Li L, Zhang Q, Li M, Hu M, Luo Y, et al.** (2023) Characterization of the *Clostridium perfringens* phage endolysin cpp-lys and its application on lettuce. *Int J Food Microbiol* 405: 110343.
34. **Loessner MJ, Kramer K, Ebel F, and Scherer S.** (2002) C-terminal domains of *Listeria monocytogenes* bacteriophage murein hydrolases determine specific recognition and high-affinity binding to bacterial cell wall carbohydrates. *Mol Microbiol* 44: 335–349.
35. **Yu J, Zhang Y, Zhang Y, Li H, Yang H, and Wei H.** (2016) Sensitive and rapid detection of *Staphylococcus aureus* in milk via cell binding domain of lysin. *Biosens Bioelectron* 77: 366–371.
36. **Gerstmans H, Criel B, and Briers Y.** (2018) Synthetic biology of modular endolysins. *Biotechnology Advances* 36: 624–640.
37. **Schmelcher M, Donovan DM, and Loessner MJ.** (2012) Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Future Microbiol* 7: 1147–1171.
38. **Gordillo TB, Palumbo MC, Allievi MC, Fernández Do Porto DA, Ruzal SM, and Palomino MM.** (2020) Strategies to display heterologous proteins on the cell surface of lactic acid bacteria using as anchor the C-terminal domain of *Lactobacillus acidophilus* SlpA. *World J Microbiol Biotechnol* 36: 169.
39. **Steen A, Buist G, Leenhouts KJ, El Khattabi M, Grijpstra F, Zomer AL, et al.** (2003) Cell wall attachment of a widely distributed peptidoglycan binding domain is hindered by cell wall constituents. *J Biol Chem* 278: 23874–23881.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista Química Viva

Volumen 24, Número 3, Diciembre de 2025

ID artículo: E0301

DOI: 10.62167/qv.e0301

[Versión online](#)