

ナイシン—類稀な抗菌物質—

益田時光¹・善藤威史¹・園元謙二^{1,2}

(¹九州大学大学院農学研究院, ²九州大学バイオアーキテクチャーセンター

^{1,2}〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1)

Nisin—an antibacterial peptide with exceptional potential—

Yoshimitsu Masuda,¹ Takeshi Zendo,¹ and Kenji Sonomoto^{1,2}

(¹Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Graduate School, Kyushu University

²Department of Functional Metabolic Design, Bio-Architecture Center, Kyushu University

^{1,2}6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan)

1 はじめに

乳酸菌は様々な環境中に存在しており、発酵食品などの形をとって人々に日常的に摂取されている。近年では、腸内環境の改善などの健康に対する多大な寄与という点からも、非常に注目を集めている。この乳酸菌は、有機酸やアルコール、バクテリオシンなどの抗菌性物質を生産することで、有害菌を含む他の細菌を排除しながら、環境において生存競争を優位に進めている¹⁾。発酵食品では、このような乳酸菌の抗菌作用を利用して、保存性が高められている。

バクテリオシンとは、細菌が生産する抗菌性ペプチドであり、主に生産菌の類縁種などに抗菌効果を示す。また、一般的に無味無臭、低 pH 域において安定であり、nM 単位で標的細菌に対して抗菌作用を示し、真核細胞に影響を及ぼさないという特徴も備えている。非常に低濃度で標的細菌に作用するため、強力な耐性菌の出現は起こり難いといえる。さらにペプチドであるため、腸管内の消化酵素で分解され、人に対する悪影響もなく、環境への負荷も少ないといえる。近年、食品としてまたは食品に付随して摂取される、人体に無害である生物由来の抗菌性物質を用いて食品を保存する手法、「バイオプリザベーション」が注目を集めている中、乳酸菌バクテリオシンはその主要な担い手として大いに期待されている²⁾。

一方、対比される抗生物質は、食品とは無関係な細菌によって生産され、幅広い抗菌スペクトルを有してい

る。一般的に分解されにくく、 μM 単位で様々な作用機構で抗菌効果を示す。また真核細胞に対しても多大な影響を与えるものもあり、さらに耐性菌の出現がすでに大きな問題となっている。例えば、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) やバンコマイシン耐性腸球菌 (VISA) などの多剤耐性菌の出現は深刻な問題となっている。これらの点を考慮すると、乳酸菌が生産するバクテリオシンは抗生物質に比べて非常に優位な性質を多く持っているといえる。

2 代表的な乳酸菌バクテリオシン、ナイシン

ナイシンは、乳酸菌が生産するバクテリオシンの中で最も代表的なものであり、その生合成機構や応用に関する研究の歴史は古く、1928年にナイシン A が発見されてから今日に至るまで、広く世界中で基礎と応用の両面で研究がなされている^{3~9)}。ナイシンは乳酸菌 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* の一部の株によって生産され、1969年に WHO と FAO によって認可されて以来、その類縁体の一つであるナイシン A は、広く世界中で食品保存料として利用されている (表 1)。ナイシンは食品汚染菌を含むグラム陽性細菌に対して幅広い抗菌スペクトルと強力な抗菌力を示し (表 2)¹⁰⁾、熱や低 pH における高い安定性を有している。このように非常に優れた特性を有しているナイシンは、食品保存料としての類稀な可能性を秘めており、今回ナイシンに関して基礎から応用にわたって触れてみたいと思う。

ナイシンには、いくつかの類縁体が存在しており、最初に発見されたナイシン A は他の類縁体とは区別して扱われている。現在までに構造が完全に決定しているナイシン類縁体は、ナイシン A、ナイシン Z^{8,9)}、ナイシン Q¹¹⁾ がある (図 1)。3 種のナイシンはいずれも 34 ア

連絡者 園元謙二 (〒812-8581 福岡県福岡市東区箱崎 6-10-1, 九州大学大学院農学研究院, Fax : 092-642-3019, E-mail: sonomoto@agr.kyushu-u.ac.jp)

2010年2月11日 受理

ミノ酸からなり、生化学的諸性質や生産機構は類似している。また近年、*Streptococcus uberis* が生産するナイシン U¹²⁾ と *Lc. lactis* が生産するナイシン F¹³⁾ が相次いで報告されている。

表 1 世界におけるナイシン A の使用例 (Cleveland ら (2001)⁶⁾より)

国名	使用可能食品	最大使用量 (IU/g)*
オーストラリア	チーズ, 缶詰	無制限
イギリス	チーズ, 缶詰	無制限
ポリビア	すべての食品	無制限
タイ	チーズ	4000
オランダ	チーズ	800
イタリア	チーズ, 缶詰	500, 100
メキシコ	すべての食品	500
アメリカ	チーズスプレッド等	10000

* 1 IU は精製ナイシン A の 25 ng に相当する。

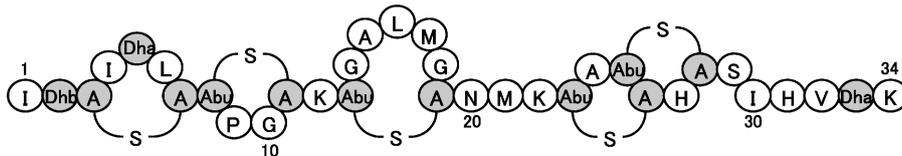
表 2 ナイシン A のグラム陽性細菌に対する最小生育阻止濃度 (MIC) (Fujita ら (2007)¹⁰⁾より)

検定菌	MIC (ng/ml)
<i>Bacillus cereus</i> JCM 2152 ^T	84.9
<i>B. coagulans</i> JCM 2257 ^T	30.2
<i>Listeria innocua</i> ATCC 19435 ^T	231
<i>Lactococcus lactis</i> ATCC19435 ^T	265
<i>Streptococcus salivarius</i> JCM 5707 ^T	2520
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600 ^T	158
<i>Enterococcus faecalis</i> JCM 5803 ^T	295

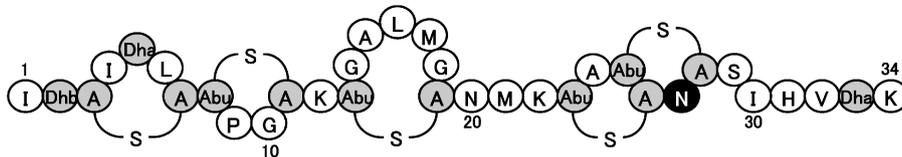
3 乳酸菌バクテリオシンの構造と分類

乳酸菌が生産するバクテリオシンは、その抗菌スペクトル、耐熱性や pH 安定性といった特性の異なる様々なものが存在している。乳酸菌をはじめとするグラム陽性細菌が生産するバクテリオシンは、その構造を基に大きく二つのクラスに分類される¹⁴⁾。異常アミノ酸を含むクラス I と含まないクラス II である。クラス I バクテリオシンはランチビオティック (lantibiotics; lanthionine-containing antibiotics) とも呼ばれており、その構造中に翻訳後修飾によって生じる異常アミノ酸を有する¹⁵⁾。最も代表的な乳酸菌バクテリオシンであるナイシンはこのクラス I に分類される。一方、異常アミノ酸を含まないクラス II はさらに 4 つのサブクラスに分かれる¹⁴⁾。クラス II a は高い抗リステリア活性を有するもの、クラス II b は二つのペプチドの相乗作用で抗菌活性を示すもの、クラス II c は N 末端と C 末端がペプチド結合した環状構造を有するもの、クラス II a から II c に当てはまらないクラス II バクテリオシンをクラス II d と定めている。また、エンテロリシン A (34.5 kDa)¹⁶⁾ など、分子量の大きなタンパク質性の抗菌物質がいくつか報告されているが、これらをクラス III と分類するか、またはバクテリオシンと区別するかは議論が分かれている。

ナイシン A



ナイシン Z



ナイシン Q

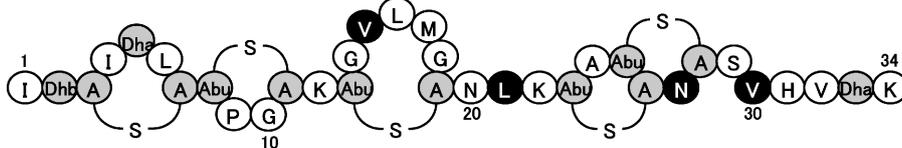


図 1 ナイシン類縁体の構造

網掛けは異常アミノ酸を示し、白抜きはナイシン類縁体間で異なるアミノ酸残基を示す。ナイシン Z は 1 残基、ナイシン Q は 4 残基がナイシン A とは異なる。

4 ナイシンの生産機構, 作用機構, 自己耐性機構

4-1 ナイシンの生産機構

まずはナイシンがどのようにして生産されているかを見ていきたい。これまでにナイシンの生合成機構は精力的に研究がなされてきた。生合成に関与する11の遺伝子群はクラスターを形成してゲノム上にコードされており、各遺伝子の機能は詳細に研究された¹⁵⁾。ナイシン A, Z, Q はすべて相同なこの11の遺伝子群によって生産がおこなわれており、ここでは、代表してナイシン A の生産機構を紹介する (図2)。ナイシン A の生産は構造遺伝子 *nisA* がリボソーム上で翻訳されることから始まる。翻訳された NisA は57残基のアミノ酸からなり、C末端側の活性型ナイシンとなる34アミノ酸残基にN末端側の23アミノ酸残基のリーダー配列が付随した状態をとっている。NisA の特定のセリン、トレオニン残基が NisB によって脱水され、それぞれデヒドロアラニン、デヒドロプロチリンと呼ばれる不飽和アミノ酸に変換される。さらにその中の特定の不飽和アミノ酸とシステイン残基が、NisC の触媒作用によってチオエーテル結合を介した環化作用を受け、それぞれランチオニン、3-メチルランチオニンとなる¹⁷⁾。修飾後の NisA は、膜中に存在している ABC (ATP-binding cassette) トランスポーター NisT によって菌体外に排出された後、細胞壁側の膜にアンカーした NisP によってN末端のリー

ダー配列が切断され、活性型のナイシンが菌体外に分泌される。ナイシンを含むランチビオティックのリーダー配列は、活性型ペプチドが菌体外に分泌される過程だけでなく、生合成タンパク質による基質認識に本質的な役割を担っている。近年では、ナイシンの生合成タンパク質群とリーダー配列を用いて非ランチビオティックなペプチドに異常アミノ酸を導入した報告もあり、異常アミノ酸を有する新たな機能性ペプチドの創生が期待されている^{18~21)}。

4-2 ナイシンの生産制御機構

ナイシンを含む多くのバクテリオシンは、クォラムセンシングと呼ばれる菌密度依存的なシグナル伝達機構によって生産が制御されている。クォラムセンシングとは、菌体外に排出されたフェロモン様物質 (インデューサー)、およびそれを感知するセンサータンパク質 (ヒスチジンキナーゼ) と細胞内に刺激を伝えるタンパク質 (レスポンスレギュレーター) の3成分によって構成されている。ナイシンのクォラムセンシングにおいては、ナイシン自身がフェロモン様物質 (オートインデューサー) として働き、ヒスチジンキナーゼである NisK と結合する²²⁾。結合した NisK はリン酸化を受け、リン酸をレスポンスレギュレーターである NisR へと受け渡す。これによって活性化した NisR はナイシン遺伝子クラスター上流の特異的なプロモーター部位に作用し、遺伝子群の転写を一斉に引き起こす (図2)。こ

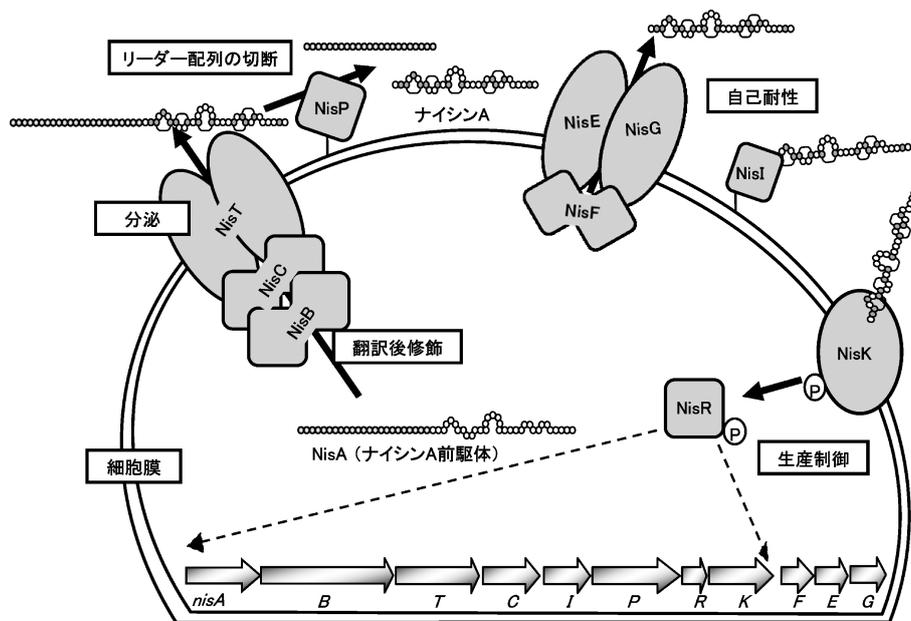


図2 ナイシンの生産機構

リーダー配列を含む NisA は、NisB と NisC によって翻訳後修飾を受け、NisT によって菌体外へと分泌され、NisP によってリーダー配列が切断されて活性型のナイシン A となる。NisI, NisF, NisE, NisG は、自己耐性機能を担っている。ナイシン A は誘導物質としても働いており、その刺激は NisK, NisR と伝達され、*nisA* と *nisF* の上流に位置する特異的プロモーター領域に作用することで、下流の生合成、自己耐性遺伝子群の転写を促進する。

のナイシンによる遺伝子発現制御は厳密であり、わずか 2.5 ng/ml (0.75 nM) の超低濃度のナイシンで刺激の伝達が起こる。このナイシンによるシグナル伝達を利用したタンパク質発現システム、NICE システム (Nisin-Controlled gene Expression system) が構築され、すでに広く利用されている²²⁾。

4-3 ナイシンの作用機構

ナイシンは、これまでに報告されている抗生物質等と比較しても非常に抗菌効果が高いが、産業利用においてははまだ深刻な耐性菌の報告はなされていない。耐性菌の出現を未然に防ぐために、作用機構を知ることは非常に重要なことといえる。ナイシンに関しては、すでに詳細な作用機構が明らかとなっている^{23~27)}。ナイシンは、細胞膜中に存在するリポド II と呼ばれる細胞壁前駆体をターゲットとして付着し、細胞膜中に脂質を抱え込むように折れ曲がりながら入りこんでいく。その後、8 分子のナイシンが 4 分子のリポド II と結合してトンネル状に孔を形成し、そこから細胞内のイオンや ATP などの物質を細胞外へ流出させることで菌体を死に追いやる (図 3)。また、菌によっては、孔があいてないにもかかわらず、増殖が抑制されるものもあるが、これはナイシンが付着することで、リポド II が本来の役目である細胞壁前駆体として機能できなくなるためということが明らかとなっている^{28,29)}。一方、ナイシンは単独ではグラム陰性菌には抗菌効果を示さないが、グラム陰性菌が有する外膜がナイシンの侵入を防ぎ、細胞膜への作用をブロックしているためである。

4-4 ナイシン生産菌の自己耐性

一般的にすべてのバクテリオシン生産菌は、自身の生産したバクテリオシンから身を守るために、そのバクテリオシンに特有の自己耐性機構を有している³⁰⁾。自己耐性タンパク質も生合成タンパク質同様、構造遺伝子近傍にコードされている。ナイシン生産菌の場合、2つの機構によって自身を守っている³¹⁾ (図 2)。NisI はリポタンパク質であり、細胞膜上にアンカーした状態で存在しており、膜に作用しようとするナイシンを吸着することで自己耐性能を発揮している。一方、NisF、NisE、NisG は複合体を形成した形で細胞膜に存在し、ABC トランスポーターとして菌体外にナイシンを排出している。これら 2つの機構が揃って、はじめて完全な自己耐性能を発揮し、それぞれが協動的に作用していると考えられる。

5 ナイシンの応用

5-1 これまでの利用例

表 2 に示すように、ナイシンは食品汚染菌や食中毒細菌となる *Bacillus* 属や *Clostridium* 属細菌に対して特に高い抗菌効果を示し、*Listeria* 属や *Staphylococcus* 属細菌にも有用な効果を示すことから、様々な食品の保存への利用が試みられてきた。先に述べたように、現在ナイシン A は世界 50 カ国以上で食品保存料として利用され、チーズ、乳製品、缶詰等に使用されている (表 1)。例えば中国においては、すでにナイシンの生産が国家レベルで始動しており、ナイシンの利用によって牛乳の広

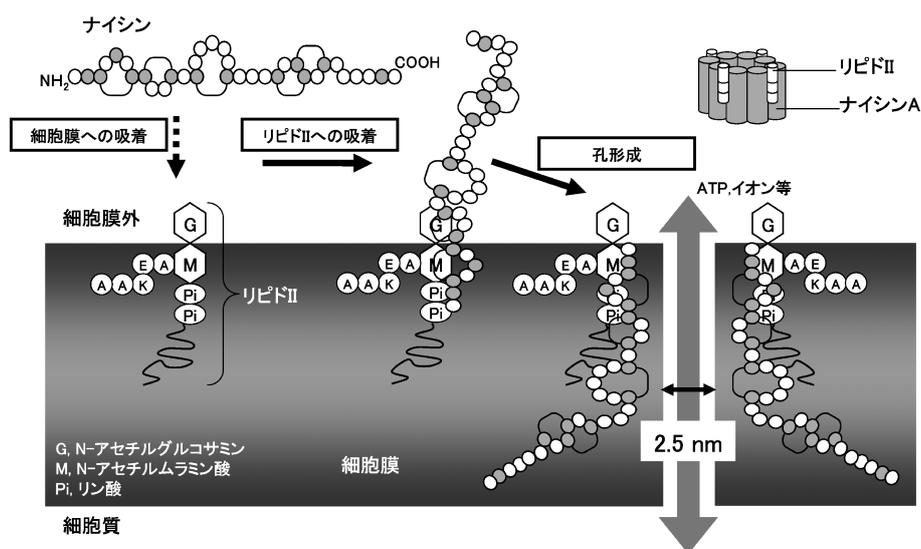


図 3 ナイシンの作用機構モデル

正に帯電したナイシンは静電作用によって細胞膜に接触し、細胞壁前駆体であるリポド II に結合し、細胞膜へ侵入する。4 分子のリポド II と 8 分子のナイシンが複合体を形成することで、直径 2.5 nm の孔を形成し、そこから ATP やイオンといった細胞内物質を細胞外へ漏出させる。(Breukink ら (2006)²³⁾ の図を改変)

表3 ナイシンAの使用基準（厚生労働省行政情報・添加物使用基準リストより）

使用できる食品等	使用量等の最大限度* (精製ナイシンAとして)
食肉製品	
チーズ（プロセスチーズ以外）	0.0125 g/kg
ホイップクリーム類	
ソース類	
ドレッシング	0.010 g/kg
マヨネーズ	
プロセスチーズ	
洋菓子	0.0625 g/kg
卵加工品	
味噌	0.0050 g/kg
洋生菓子（穀類及びでん粉を主原料としたもの）	0.0030 g/kg

* 特別用途表示の許可または承認を受けたものはこの限りではない。

範な輸送が可能となり、牛乳を飲むという習慣が広まってきた³²⁾。また、ナイシン生産菌自身を発酵スターターとして利用することでチーズやヨーグルトの保存効果が向上した例もある³³⁾。また日本においても、2009年3月にナイシンAが食品添加物としての認可を得て、食品保存への利用が可能となった。1日の摂取許容量（ADI）は0.13 mg/kg 体重/日と設定され、海外での使用実態を踏まえ、使用できる食品および使用基準も示された（表3）。

5-2 これから期待される応用例

グラム陽性細菌に対して非常に高い抗菌効果を有するナイシンだが、単独ではグラム陰性菌に対しては効果を示さないことは先にも述べたとおりである。しかし、グラム陰性菌の細胞外膜を破壊、除去する効果のあるキレート剤と併用することで、グラム陰性菌に対しても抗菌効果を示すことが明らかとなっている³⁴⁾。このように、他の抗菌物質又は殺菌処理法との併用によって、ナイシンの新たな利用の可能性が検討されている。例えば、アラニンとの併用による芽胞細胞への抗菌効果も報告されている。*Bacillus* 属や *Alicyclobacillus* 属は耐熱性の芽胞を形成することで、100°Cを越す高温や低pHの環境においても死滅せずに食品中に残存してしまうことがある。ナイシン等のバクテリオシンは、栄養細胞に対しては抗菌効果を示すものの、芽胞に対しては効果を示さないという弱点がある。そこで、発芽誘導物質であるアラニンとナイシンを併用することで、芽胞菌の抑制を達成した例が報告されている³⁵⁾。

食品への応用にとどまらず、人や家畜の感染症予防に対しても大きな期待が寄せられ、研究が盛んに行われて

いる。牛の乳房炎は、これまで長きにわたって予防対策が講じられてきたものの、いまだに酪農経営に多大な損害をもたらす重大な疾病である。現在、その予防策として、ヨウ素系の乳頭消毒剤（ティートディッピング剤）が生産現場で広く用いられ、搾乳前後に乳頭を消毒することで、*Staphylococcus aureus* や *Streptococcus agalactiae* などの乳房炎起因菌への感染を予防している。しかし、乳房炎起因菌を完全に制御するまでには至っておらず、出荷乳中のヨード剤残留も問題となっている。そこでそれに替わる予防剤に、残留しても牛乳の品質を損ねることなく、耐性菌を生じにくく、かつ優れた抗菌作用を有するといった理想的な特性を有するナイシンに大きな期待が寄せられている。ナイシンを含んだ薬剤を用い、予防もしくは治療するという研究がこれまでになされており、すでにその予防剤や治療剤に関しては利用の一手前まで来ている^{36,37)}。ナイシンを主成分とした予防剤は黄色ブドウ球菌に対しては市販のヨード系薬剤を上回る効果を示し、さらに有機酸との併用によってグラム陰性細菌である大腸菌に対しても非常に高い効果を示すことが明らかとなっている。近い将来、この技術が酪農経営に明るい光をもたらすことが期待される。

おわりに

古くから人類の食生活に欠かせない発酵食品、その中に含まれている乳酸菌によって様々な抗菌物質が生産され、人々は知らず知らずのうちにその恩恵を受け続けていた。そのような歴史的な背景によってその安全性が保障され、さらに科学者たちが長年にわたって蓄積してきた膨大な知見の裏付けを受けているナイシンは、発酵食品に限らず他の食品への応用、さらに食品にとどまらず医薬等への応用までも大いに期待されることだろう。

引用文献

- 1) 善藤威史・米山史紀・澤 稔彦・園元謙二：乳酸菌が生産する抗菌性物質．防菌防黴，**12**，903-911（2009）。
- 2) Galvez, A., Abriouel, H., Lopez, R. L., and Ben Omar, N.: Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.*, **120**, 51-70（2007）。
- 3) Hirsch, A.: Various antibiotics from one strain of *Streptococcus lactis*. *Nature*, **167**, 1031-1032（1951）。
- 4) Berridge, N. J., Newton, G. G., and Abraham, E. P.: Purification and nature of the antibiotic nisin. *Biochem. J.*, **52**, 529-535（1952）。

- 5) Engelke, G., Gutowski-Eckel, Z., Hammelmann, M., and Entian, K. D.: Biosynthesis of the lantibiotic nisin: genomic organization and membrane localization of the NisB protein. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 3730–3743 (1992).
- 6) Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., and Chikindas, M. L.: Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.*, **71**, 1–20 (2001).
- 7) Twomey, D., Ross, R. P., Ryan, M., Meaney, B., and Hill, C.: Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. *Antonie van Leeuwenhoek*, **82**, 165–185 (2002).
- 8) Mulders, J. W., Boerigter, I. J., Rollema, H. S., Siezen, R. J., and de Vos, W. M.: Identification and characterization of the lantibiotic nisin Z, a natural nisin variant. *Eur. J. Biochem.*, **201**, 581–584 (1991).
- 9) de Vos, W. M., Mulders, J. W., Siezen, R. J., Hugenholtz, J., and Kuipers, O. P.: Properties of nisin Z and distribution of its gene, *nisZ*, in *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 213–218 (1993).
- 10) Fujita, K., Ichimasa, S., Zendo, T., Koga, S., Yoneyama, F., Nakayama, J., and Sonomoto, K.: Structural analysis and characterization of lacticin Q, a novel bacteriocin belonging to a new family of unmodified bacteriocins of gram-positive bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 2871–2877 (2007).
- 11) Fukao, M., Obita, T., Yoneyama, F., Kohda, D., Zendo, T., Nakayama, J., and Sonomoto, K.: Complete covalent structure of nisin Q, new natural nisin variant, containing post-translationally modified amino acids. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 1750–1755 (2008).
- 12) Wirawan, R. E., Klesse, N. A., Jack, R. W., and Tagg, J. R.: Molecular and genetic characterization of a novel nisin variant produced by *Streptococcus uberis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 1148–1156 (2006).
- 13) de Kwaadsteniet, M., Ten Doeschate, K., and Dicks, L. M.: Characterization of the structural gene encoding nisin F, a new lantibiotic produced by a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolate from freshwater catfish (*Clarias gariepinus*). *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 547–549 (2008).
- 14) Cotter, P. D., Hill, C., and Ross, R. P.: Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat. Rev. Microbiol.*, **3**, 777–788 (2005).
- 15) Xie, L. and van der Donk, W. A.: Post-translational modifications during lantibiotic biosynthesis. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **8**, 498–507 (2004).
- 16) Hickey, R. M., Twomey, D. P., Ross, R. P., and Hill, C.: Production of enterolysin A by a raw milk enterococcal isolate exhibiting multiple virulence factors. *Microbiology*, **149**, 655–664 (2003).
- 17) Li, B., Yu, J. P., Brunzelle, J. S., Moll, G. N., van der Donk, W. A., and Nair, S. K.: Structure and mechanism of the lantibiotic cyclase involved in nisin biosynthesis. *Science*, **311**, 1464–1467 (2006).
- 18) Kuipers, A., de Boef, E., Rink, R., Fekken, S., Kluskens, L. D., Driessen, A. J., Leenhouts, K., Kuipers, O. P., and Moll, G. N.: NisT, the transporter of the lantibiotic nisin, can transport fully modified, dehydrated, and unmodified prenisin and fusions of the leader peptide with non-lantibiotic peptides. *J. Biol. Chem.*, **279**, 22176–22182 (2004).
- 19) Rink, R., Kuipers, A., de Boef, E., Leenhouts, K. J., Driessen, A. J., Moll, G. N., and Kuipers, O. P.: Lantibiotic structures as guidelines for the design of peptides that can be modified by lantibiotic enzymes. *Biochemistry*, **44**, 8873–8882 (2005).
- 20) Kluskens, L. D., Kuipers, A., Rink, R., de Boef, E., Fekken, S., Driessen, A. J., Kuipers, O. P., and Moll, G. N.: Post-translational modification of therapeutic peptides by NisB, the dehydratase of the lantibiotic nisin. *Biochemistry*, **44**, 12827–12834 (2005).
- 21) 奥田賢一・永尾潤一・園元謙二：ランチビオティック：その特性と次世代ペプチドデザイン技術の開発。 *化学と生物* **47**, 91–97 (2009)。
- 22) Mierau, I. and Kleerebezem, M.: 10 years of the nisin-controlled gene expression system (NICE) in *Lactococcus lactis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **68**, 705–717 (2005).
- 23) Breukink, E. and de Kruijff, B.: Lipid II as a target for antibiotics. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **5**, 321–332 (2006).
- 24) Breukink, E., Wiedemann, I., van Kraaij, C., Kuipers, O. P., Sahl, H.-G., and de Kruijff, B.: Use of the cell wall precursor lipid II by a pore-forming peptide antibiotic. *Science*, **286**, 2361–2364 (1999).
- 25) Hsu, S. T., Breukink, E., Tischenko, E., Lutters, M. A., de Kruijff, B., Kaptein, R., Bonvin, A. M., and van Nuland, N. A.: The nisin-lipid II complex reveals a pyrophosphate cage that provides a

- blueprint for novel antibiotics. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 963–967 (2004).
- 26) Hasper, H. E., de Kruijff, B., and Breukink, E.: Assembly and stability of nisin-lipid II pores. *Biochemistry*, **43**, 11567–11575 (2004).
- 27) Wiedemann, I., Benz, R., and Sahl, H.-G.: Lipid II-mediated pore formation by the peptide antibiotic nisin: a black lipid membrane study. *J. Bacteriol.*, **186**, 3259–3261 (2004).
- 28) Wiedemann, I., Breukink, E., van Kraaij, C., Kuipers, O. P., Bierbaum, G., de Kruijff, B., and Sahl, H.-G.: Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II combines pore formation and inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity. *J. Biol. Chem.*, **276**, 1772–1779 (2001).
- 29) Hasper, H. E., Kramer, N. E., Smith, J. L., Hillman, J. D., Zachariah, C., Kuipers, O. P., de Kruijff, B., and Breukink, E.: An alternative bactericidal mechanism of action for lantibiotic peptides that target lipid II. *Science*, **313**, 1636–1637 (2006).
- 30) Guder, A., Wiedemann, I., and Sahl, H.-G.: Posttranslationally modified bacteriocins—the lantibiotics. *Biopolymers*, **55**, 62–73 (2000).
- 31) Stein, T., Heinzmann, S., Solovieva, I., and Entian, K. D.: Function of *Lactococcus lactis* nisin immunity genes *nisI* and *nisFEG* after coordinated expression in the surrogate host *Bacillus subtilis*. *J. Biol. Chem.*, **278**, 89–94 (2003).
- 32) 中国食品化学市場視察記. 浙江銀象生物工程有限
公司. フードケミカル, **23**, 78–79 (2007).
- 33) 澤 稔彦・善藤威史・中山二郎・園元謙二: 乳酸
菌バクテリオシンによる微生物制御. 醸造協会誌,
103, 223–229 (2008).
- 34) 岩谷 駿・善藤威史・古賀祥子・中山二郎・園元
謙二: 乳酸菌が生産する抗菌ペプチド—探索と応
用研究—. バイオインダストリー, **24**, 23–31
(2007).
- 35) 善藤威史・島田伸也・谷本保英・相馬さやか・中
山二郎・園元謙二: 乳酸菌のバクテリオシンを利用
するバイオプリザベーション. 生物工学, **80**,
569–573 (2002).
- 36) 特願. 2009-121295, 乳房炎予防剤.
- 37) 特願. 2009-121213, 乳房炎治療剤.