

细菌素的合成与作用机制

吴清平^{1*} 黄静敏^{1,2,3} 张菊梅¹ 莫树平¹

(1. 广东省微生物研究所 广东省菌种保藏与应用重点实验室 广东 广州 510070)

(2. 中国科学院南海海洋研究所 广东 广州 510301)

(3. 中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要: 细菌素是由细菌产生的抗菌蛋白,可以杀死与产生菌相近的细菌。很多乳酸菌产生不同多样性的细菌素,虽然这些细菌素都是由发酵或非发酵食品中发现的乳酸菌产生的,但是迄今只有乳酸链球菌素(Nisin)作为食品防腐剂被广泛应用。和抗生素不同的是,细菌素由核糖体合成,需经翻译后修饰活化并且通过特定转运系统输到胞外才能发挥其功能,它一般通过作用于靶细胞膜来抑制靶细胞的生长,同时本身合成细菌素的细胞对其产物具有免疫性。细菌素能安全有效地抑制病原体生长,在食品行业中具有广阔的应用前景。

关键词: 细菌素, 抗菌, 栅栏技术, 食品防腐

Biosynthesis of Bacteriocins and Its Mechanism of Action

WU Qing-Ping^{1*} HUANG Jing-Min^{1,2,3} ZHANG Ju-Mei¹ MO Shu-Ping¹

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou, Guangdong 510070, China)

(2. South China Sea Institute of Oceanology Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510301, China)

(3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Bacteriocins are antibacterial proteins produced by bacteria that can kill or inhibit closely related bacteria. Many lactic acid bacteria (LAB) produce a high diversity of different bacteriocins. Though these bacteriocins are produced by LAB found in numerous fermented and non-fermented foods, nisin is currently the only bacteriocin widely used as a food preservative. Compared with antibiotics, bacteriocins are ribosomally synthesized. Their transcript must be modified before becoming active and are translocated to the outside of the cell by a transporter system. Bacteriocins inhibit target cells by acting on the membrane, while the cell synthesizing the bacteriocin has immunity to its product. Therefore, bacteriocins should be safely and effectively used to control the growth of target pathogens, make it have wide applications in many food systems.

Keywords: Bacteriocin, Antimicrobial, Hurdle technology, Food preservation

随着社会经济的快速发展,人们生活水平的不
断提高,人们对自身健康和食品卫生安全性日趋

重视。因此采用由乳酸菌产生的无毒或无其它副作
用、抑制食品病原微生物生长的抗菌肽或蛋白受到

基金项目: 粤港关键领域重点突破项目(No. 2007A020902003); 广东省科技计划项目(No. 2006A10601002)

* 通讯作者: Tel: 86-20-287688132; ✉ wuqp203@yahoo.com.cn, dbut@im.ac.cn
收稿日期: 2010-03-23; 接受日期: 2010-07-12

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

人们的高度重视。随着科学技术的发展和检测分析手段的完善,过去认为安全的人工合成防腐剂被发现有致癌或潜在致癌的可能性,如硝酸盐、亚硝酸盐等在消化系统中会与脯氨酸形成强致癌物 N-亚硝胺类物质。因此,寻求安全有效的天然食品防腐剂是食品工业发展的首要问题之一。近年来,随着乳酸链球菌素(Nisin)被批准作为食品防腐剂应用于食品工业中,人们对细菌素的研究越来越重视。本文通过对细菌素的最新研究进行归纳和分析,以期为此类具有很好应用前景的抗菌肽的研究和开发提供参考。

1 细菌素的性质

细菌素(Bacteriocin)是某些细菌产生的具有抗菌活性的多肽、蛋白质或蛋白复合物,一般只对亲缘关系较近的细菌有毒害作用,产生菌对其产生的细菌具有自身免疫性。细菌素的来源很广,由革兰氏阳性菌(G^+)、革兰氏阴性菌(G^-)或某些古细菌产生,如大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、变异链球菌(*Mutans streptococci*)、血链球菌(*Streptococcus sanguis*)和乳酸菌(*Lactic Acid Bacteria*)等。其中乳酸菌是食品安全级微生物,在食品、医药行业中应用广泛,因此其产生的细菌素作为食品添加剂具有很大的潜能。

1.1 细菌素的分类

细菌产生的细菌素种类繁多,根据细菌素的组成、大小、热稳定性、作用方式、输出机制和抑菌

谱等,乳酸菌细菌素被分为 4 类,其中根据结构分类如表 1 所示。随着细菌素研究的深入,新型细菌素不断出现,其分类方法也在不断变化,并逐步完善。

1.2 细菌素的抑菌谱

与广谱抗生素相比,细菌素的抑菌谱相对较窄。不同细菌产生的细菌素抗菌活性各不相同。一般来说, G^+ 所产生的细菌素只对其他 G^+ 有抗菌活性,也有一些特殊的细菌素,不仅对 G^+ 有抗菌活性,对某些 G^- 也有抗菌作用,如Nisin A、Mutacin-Ny266 不仅对大多数 G^+ 有抗菌活性,还对一些 G^- 也有抗菌活性作用,包括弧菌和螺旋菌等。Nisin对许多 G^+ 具有抗菌活性,包括葡萄球菌、李斯特氏菌、分枝杆菌、棒杆菌和乳杆菌等,对一些致病性 G^- 菌如弯曲杆菌、嗜血杆菌也可杀死。

1.3 和抗生素的区别

在某些文献中经常将细菌素和抗生素混为一谈,这会限制细菌素在食品中的合理应用。虽然细菌素与抗生素都是由微生物产生,但是它们的产生方式及作用模式等都有不同。细菌素是由细菌通过核糖体合成的微生物初级产物,属于蛋白类物质,而抗生素属于次级代谢产物,是由多酶复合体合成的。此外,细菌素的抑菌谱相对较窄,一般只能抑制与其相近的细菌,而抗生素多为广谱。从表 2 可以看出,细菌素不同于临床上的抗生素,它可以安全有效的抑制食品中病原体的生长。

表 1 乳酸菌细菌素的分类^[1]
Table 1 Classification of bacteriocins produced by lactic acid bacteria^[1]

类别 Group	特征 Features	细菌素 Bacteriocins
I 经大范围翻译后修饰而成的核糖体小肽(< 5 D)	Ia 羊毛硫抗生素(Lantibiotics), 含有羊毛硫氨酸、 β -甲基羊毛硫氨酸等, 能延伸并能在细胞膜上形成孔洞的两性分子	Nisin
	Ib 刚硬的球状抗菌肽, 带负电或不带电荷, 能抑制细菌细胞壁形成	Mersacidin
II 具有膜活性, 未经修饰的多肽(< 10 D)	IIa 小分子热稳定肽, 由 2 个半胱氨酸所构成的 S-S 桥, 有强烈抗李斯特菌的活性, N-末端氨基酸序列为: YGNGVXC	Pediocin PA-1, sakacins A and P, leucocin A, carnobacteriocins, etc
	IIb 由 2 个具有不同氨基酸序列的肽类寡聚体形成; 一般需要 2 个肽段才能发挥活性	Enterocin L50
	IIc	Acidocin B
	IIId 最近被提议的	Thuricin 17 ^[2] , Bacthuristicin F4 ^[3]
III	大分子的热不稳定肽(> 30 kD)	Helveticins J and V-1829, lactacins A and B
VI	细菌素和其他大分子组成的复合物	

表 2 细菌素和抗生素的异同
Table 2 Bacteriocins vs. antibiotics

性质 Characteristic	细菌素 Bacteriocins	抗生素 Antibiotics
应用 Application	食品	临床
合成抑菌谱 Synthesis Activity	染色体(质粒)编码, 核糖体合成窄, 多数只对亲缘近的种属作用	次级代谢产生, 多变
免疫源性 Host cell immunity	有	无
靶细胞反抗或耐受机制 Mechanism of target cell resistance or tolerance	通常适应性影响细胞膜的组分	通常是基因转移的决定因素依赖于不同的作用方式影响不同的位点
相互作用条件 Interaction requirements	有时连接分子	特定目标
作用机制 Mode of action	大多数形成膜孔, 但少数可能是细胞壁的生物合成	细胞膜或细胞内靶分子
毒理/副作用 Toxicity/Side effects	未知	有

2 细菌素的合成及分泌

2.1 细菌素的合成

产生有活性的细菌素基因通常都在操纵子簇上。在很多已测序的羊毛硫抗生素操纵子上发现了同源基因。大多数特征的羊毛硫抗生素操纵子都属于 Ia 类。Ib 类羊毛硫抗生素 Mersadicin 的完整基因簇已被测出^[4], 发现很多基因转录的蛋白都和已知的 Ia 类蛋白相似。编码细菌素的基因大部分位于质粒中, 也有位于染色体上^[4-5]或转座子(如 Nisin)上。细菌一般有编码结构蛋白、活化细菌素、跨膜定位、调节和使产生菌得到免疫性的蛋白基因。很多非羊毛硫抗生素如 Plantaricin、Pediocin 和 Sakacin 的基因也已经被测出。和羊毛硫抗生素基因(结构、运输、调节基因等)相比, 存在一定的相似性, Plantaricin 系统的基因也编码共用一个转运系统和调节系统的多种细菌素。然而, 每一种细菌素都有它自己专用的免疫系统^[5]。所有类别的细菌素都是由核糖体合成的, 但只有 I 类需通过转译后修饰才能产生活性。

因为细菌素是由一个结构基因编码的, 所以它的活性位点、结构和功能之间的关系可以更容易的通过基因操纵技术检出。也可以通过分子技术构建细菌素相似物来增加其活性或改变特异性, 不像抗生素, 是由化学合成的或涉及多个基因, 需复杂的基因操纵技术。

2.2 翻译后修饰形成有活性的细菌素

细菌素必须经过转录后修饰才能形成有效的转录本。编码修饰酶的基因通常位于结构基因的附近。典型的细菌素合成方式是 N 端的引导序列, 连

着 C 端的前体肽。通常前体肽在某一特定位置分裂去掉引导序列形成有生物活性的分子并将细菌素分泌到胞外。细菌素的分泌机制如 II 类一般为双甘氨酸引导序列转运系统, 也有的是信号依赖型, 由 GSP 系统加工和运输^[6]。大量研究表明, 双甘氨酸引导序列之间的相似性, 以及 IIa 类细菌素相应的运输蛋白之间的相似性, 使得利用某一细菌素运输系统产生另外一种细菌素, 或利用一种细菌素转运系统产生多种细菌素成为可能, 即利用异源分泌机制进行细菌素的表达。我国刘丽凡、赵爱珍^[7]等利用大肠杆菌异源表达细菌素也取得较理想的效果。

羊毛硫抗生素大范围的翻译后修饰还包括几个稀有氨基酸的形成。总计超过 12 个的稀有氨基酸在羊毛硫抗生素中被发现^[8]。非羊毛硫抗生素的前体肽同样需经修饰断开引导序列。这些修饰对于分泌和运输通过细胞膜是非常必要的。

2.3 跨膜运输

大多数的 I 类和 II 类细菌素都是通过特定 ABC-转运体系统运输到细胞外。例外是少数的(目前 4-5) II 类细菌素, 是通过分泌依赖系统(Sec-dependent system)运到胞外。依赖于 ABC 转运体的细菌素主要可分成两种: 双甘氨酸引导序列的细菌素和带有不同的引导序列但非分泌引导序列的细菌素。双甘氨酸引导序列细菌素主要发现在 II 类细菌素中也包括一些羊毛硫抗生素中^[9]。细菌素分泌时 ABC 转运体的水解结构域结合在前体肽的引导序列上, 引发 ATP 水解, 转运体构象变化, 使得引导序列分离, 同时成熟分子跨细胞质膜运输出去^[10]。在分泌过程

中还需要一个辅助蛋白^[11]。分泌带有不同类型引导序列的羊毛硫抗生素的 ABC 转运体没有 N 端水解蛋白的能力,是通过一个专一的蛋白酶如 Nisin 的 NisP 来移去引导序列。

3 细菌素的作用机制和免疫性

3.1 细菌素作用机制

细菌素都是通过非特异地吸附到细胞表面,但能否与细胞特异性结合,取决于细胞壁和质膜的结构。 G^+ 细菌素对敏感菌的吸附能力相对较弱,可能不需要与特定的受体结合而直接作用。和 G^+ 菌相比, G^- 菌在发生作用前必须和敏感菌细胞膜上特定的受体结合,属于受体介导型吸附。 G^+ 细菌素都是通过使敏感菌质膜上形成膜通道,破坏膜结构的完整性或影响其稳定性从而导致离子、氨基酸和 ATP 外渗进而导致细胞死亡。只是不同的 G^+ 细菌素起作用所必需的最低膜电位不同。除了形成膜孔道外,某些 G^+ 细菌素还可以诱导细胞的自溶^[12]。

Nisin 目前被认为具有双重的作用机制:形成孔道和抑制细胞壁合成。Nisin 是第一个发现的羊毛硫抗生素利用入坞分子在细胞膜上形成孔道。通过与细胞壁前体类脂 II 特异性结合,使细胞膜形成直径 2.0 nm–2.5 nm 的孔道,并能维持一段很短的时间,引起跨膜电势消失使质子动力丧失而导致离子泄露和 ATP 水解,最终导致细胞死亡^[13–14]。

与 Nisin 一样, B 类羊毛硫抗生素 Mersacidin 也结合类脂 II,但与 Nisin 的结合位点不一样,且不能形成孔道。由植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) LL441 产生的 PlnC^[15]作用方式和 Nisin 或 Mersacidin 均有所不同,它能强烈地抑制类脂 II 合成或与已合成的类脂 II 形成复合体,干扰细胞壁合成,并使细胞膜形成孔道最终导致细胞死亡。

3.2 细菌素免疫性

合成细菌素的细胞对其产物具有免疫性是细菌素不同于抗生素的一种现象。编码“免疫蛋白”的基因接近于细菌素其它的结构基因和加工基因^[16]。细菌素的结构基因和免疫基因通常都位于同一个操纵子上,而且经常是相邻的^[9,17]。羊毛硫抗生素的免疫性最初认为是由于免疫基因的作用,如 Nisin 的 *nisl* 和 Subtilin 的 *spal* 分别编码 Nisl 和 Spal 免疫蛋白。然而,细菌素的免疫性是几种蛋白相互影响的结果,因为其他基因的删除会导致宿主细胞免疫性

的改变^[17]。例如,非 Nisin 产生的 Nisin 抗性菌株乳酸乳杆菌(*Lactobacillus lactis*)没有编码 Nisl 蛋白的基因元件,但是有和 *nisF*、*nisE*、*nisG* 相似的序列^[18]。这些被认为使得菌株对 Nisin 产生抗性。*nisG* 基因的删除使得细胞对 Nisin 的抗性减少。

非羊毛硫抗生素的 II 类细菌素的免疫现象比较简单,由一个基因编码免疫蛋白。Eijsink 等^[6]从 12 个 II a 类细菌素免疫蛋白的对比研究发现,相似的细菌素,其免疫蛋白的同源性很低,反之亦然,这说明这些相似的细菌素之间可能存在某种通用的靶物或“受体”。有实验发现细菌素的免疫蛋白除了膜整合蛋白外,还存在于胞质中,表明这种免疫蛋白可能是自由跨膜穿梭分子,通过形成膜结合蛋白来保护细菌素在膜位点的作用,而非直接作用^[19]。

3.3 细菌素反抗机制

抗生素抗性通常和遗传因子有关,它有利于细胞间、菌株和菌种间的抗性转移。不像大多数抗生素抗性,细菌素抗性是靶细胞膜生理上改变的结果^[20]。如李斯特菌的细胞膜比较僵硬, C15 : C17 的比率较低,导致它对 Nisin 的忍耐力增加^[21]。Ming^[22]等发现 Nisin 抗性李斯特菌,膜上的磷脂酰甘油双磷脂酰甘油和 Bisphosphatidylglyceryl phosphate 的数量都减少了。虽然很多研究指出细胞膜组分的改变导致抗性的出现,但还可能是由于一种或多种酶的表达或失活。Gravesen 等^[23]发现 Pediocin PA-1 抗性的李斯特菌突变体增加了编码 β -葡糖苷-特异磷酸烯醇丙酮酸盐-依赖磷酸转移酶系统(PTS)基因片段的表达量。有研究发现^[24], II 类细菌素对单核增生李斯特菌的敏感性可能与甘露醇特异的透性酶 EII_tMan 有关。而 EII_tMan 基因失活的李斯特菌突变体对 Pediocin AcH 具有很高的抗性。总之,细菌素抗性的出现除了是细胞膜改变的结果,还可能是由于一种或多种酶的表达或失活。

4 细菌素的用途

细菌素具有高效性、安全性、应用范围广、其添加不改变产品风味和病原菌对其不易产生抗性等诸多优点,因此细菌素目前已应用与食品、医学、饲料等多个方面。

4.1 细菌素在食品防腐方面的应用

细菌素能有效的抑制或杀死食品中的腐败或病原细菌,同时它属于天然的蛋白类物质,对于人体

很安全。有研究认为它在肠胃中会被蛋白酶降解^[25], 因为消化酶能迅速把细菌素灭活, 所以它在肠胃道中不能发挥抑菌作用。很多管理机构提倡利用栅栏技术来解决这样的问题, 如联合几种物理化学的方法来控制有害微生物的生长。Pediocin 和低剂量的射线联合使用时表现出很强的抑制肠膜明串珠菌 (*L. mesenteroides*) 生长活性^[26]。Nisin 是第 1 个批准用于食品的细菌素, 目前已超过 45 个国家承认 Nisin 为安全的食品防腐剂。

4.2 细菌素在医学中的应用

由于抗生素产生的耐药问题越来越严重, 人们不断寻找可以对抗耐药菌代替抗生素的药物, 其中细菌素被认为具有很大的潜力。与抗生素的广谱抗菌特性相比, 细菌素的抑菌谱较窄, 具有一定的专一性和靶向性, 不容易产生耐药性。同时细菌素的种类很多, 正常能找到针对某种病原菌相对的细菌素。如 Cerein 7 对万古霉素耐药的鸟链球菌 (*Streptococcus avium*) 以及对替考拉丁耐药的马链球菌 (*Streptococcus equi*) 具有较强的抑制作用^[27]。目前, 细菌素对细菌感染疾病治疗一般都是应用产细菌素的菌株进行细菌干预治疗, 至今还没有一种纯细菌素直接作为药物用于临床, 仅仅还停留在实验室阶段。

4.3 细菌素在饲料中的应用

与人类面临抗生素耐药株的危害一样, 畜牧业中因抗生素添加剂的滥用, 造成相当严重的后果。如 MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) ST398 在欧洲养殖场引发的一系列严重的感染。专家认为出现 MRSA ST398 是因为人们在饲料中添加抗生素增加了病菌对药物的耐受力。有研究表明, 产细菌素的菌株对于动物肠道菌群的情况有一定影响。当在鸡的饮用水中加入浓度接近 10^6 cell/mL 的 microcin 24 产生菌株, 其肠道中的鼠伤寒沙门菌在 3 个星期后就不再检出^[28]。在畜牧业生产中, 随着细菌素的出现和研究的深入, 细菌素取代抗生素逐渐成为可能, 以保证畜禽健康和畜产品安全和养殖生态环境的安全。

4.4 细菌素在栅栏技术(Hurdle technology)中的应用

栅栏技术是联合不同保存方法来抑制微生物的生长。细菌素经常和其它处理配合使用, 可以用来作为一个栅栏来改善食品的安全性。联合使用 2 种

细菌素能延长食品的货架期, 如 Nisin 和 Penedioncin PA-1/ACH 的联合使用可以防止奶制品、肉类和鱼类食品腐败。有些研究者成功联合使用 Nisin 和溶菌酶或 Nisin 和一些乳汁来代替联合使用 2 种细菌素抑制食品腐败细菌。细菌素联合其他化学防腐剂在牛奶、奶酪、果汁中抑菌效果的研究表明, 短乳杆菌 (*Lactobacillus brevis*) 和蕈状芽孢杆菌 (*Bacillus mycoides*) 的细菌素在所有处理的食品中均表现出可喜的效果^[29]。细菌素的产生菌乳酸菌培养物可以利用栅栏技术来减少食源性疾病^[30]。理解每个单独栅栏的作用方式能更有效地把各种处理组合在一起。例如, 脉冲电场 (PEF) 的应用, 它能增加细胞膜的渗透性, 已经和同样作用于细胞膜的 Nisin 配合使用^[31]。

5 展望

虽然至今 Nisin 是唯一一个纯化了用于商业的细菌素, 但其他的如 Propioncin, 具有广泛的抑菌作用, 能抑制 G^- 、部分 G^+ 、霉菌和酵母。如果能商用将是山梨酸钾等化学防腐剂的理想替代品。事实上, 以 Propioncin 为主要成分的系列微生物防腐剂产品 Microgard TM 已经广泛应用于欧美的食品市场, 特别是在乳品中。

虽然细菌素是食物传播的病原体如李斯特菌的抑制剂, 但它不是抗生素。它们的合成和作用方式使其从临床上的抗生素中区分出来。细菌素不仅能有效地控制病原微生物的生长而且安全, 具有很大的作为食品防腐剂使用的潜力。随着对细菌素的深入研究, 生物防腐剂被广泛应用于食品工业的日子不会很远, 这不仅会给消费者提供更安全更健康的食品, 而且会为食品工业带来一场重要的变革。另外因为细菌素的多样性和相对专一性, 使其具有很大的潜力成为代替抗生素用于治疗细菌感染的药物。虽然细菌素在食品和医学等方面都具有广阔的应用前景, 但是也存在不少的问题有待解决, 如产量低、失活、敏感细胞抗性的出现、寻找专一性的细菌素较困难等。

参考文献

- [1] Drider D, Fimland G, Hechard Y, et al. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006, 70(2): 564–582.
- [2] Gray EJ, Lee KD, Souleimanov AM, et al. A novel bacte-

- riocin, thuricin 17, produced by plant growth promoting rhizobacteria strain *Bacillus thuringiensis* NEB17: isolation and classification. *J Appl Microbiol*, 2006, **100**(3): 545–554.
- [3] Kamoun F, Mejdoub H, Aouissou H, *et al.* Purification, amino acid sequence and characterization of Bacthuricin F4, a new bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis*. *J Appl Microbiol*, 2005, **98**(4): 881–888.
- [4] Altena K, Guder A, Cramer C, *et al.* Biosynthesis of the lantibiotic mersacidin: Organization of a type B lantibiotic gene cluster. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(6): 2565–2571.
- [5] Diep DB, Havarstein LS, Nes IF. Characterization of the locus responsible for the bacteriocin production in *Lactobacillus plantarum* C11. *J Bacteriol*, 1996, **178**(15): 4472–4483.
- [6] Eijsink VG, Skeie M, Middelhoven PH, *et al.* Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**(9): 3275–3281.
- [7] 赵爱珍, 韩文瑜, 徐兴然. Enterocin A 在大肠杆菌中的表达及活性检测. 吉林农业大学学报, 2008, **30**(1): 89–92.
- [8] Kupke T, Gotz F. Post-translational modifications of lantibiotics. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1996, **69**(2): 139–150.
- [9] Nes IF, Diep DB, Havarstein LS, *et al.* Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1996, **70**(2/4): 113–128.
- [10] Nilsen T, Nes IF, Holo H. An exported inducer peptide regulates bacteriocin production in *Enterococcus faecium* CTC492. *J Bacteriol*, 1998, **180**(7): 1848–1854.
- [11] Franke CM, Leenhouts KJ, Haandrikman AJ, *et al.* Topology of LcnD, a protein implicated in the transport of bacteriocins from *Lactococcus lactis*. *J Bacteriol*, 1996, **178**(6): 1766–1769.
- [12] Kordel M, Schüller F, Sahl H. Interaction of the pore forming-peptide antibiotics Pep 5, nisin and subtilin with non-energized liposomes. *FEBS Letters*, 1989, **244**(1): 99–102.
- [13] Wiedemann I, Breukink E, van Kraaij C, *et al.* 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*, 2001, **276**(3): 1772–1779.
- [14] Wiedemann I, Benz R, Sahl HG. Lipid II-mediated pore formation by the peptide antibiotic nisin: a black lipid membrane study. *J Bacteriol*, 2004, **186**(10): 3259–3261.
- [15] Wiedemann I, Bottiger T, Bonelli RR, *et al.* Lipid II-based antimicrobial activity of the lantibiotic plantaricin C. *Appl Environ Microbiol*, 2006, **72**(4): 2809–2814.
- [16] Siegers K, Entian KD. Genes involved in immunity to the lantibiotic nisin produced by *Lactococcus lactis* 6F3. *Appl Environ Microbiol*, 1995, **61**(3): 1082–1089.
- [17] Klein C, Entian KD. Genes involved in self-protection against the lantibiotic subtilin produced by *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *Appl Environ Microbiol*, 1994, **60**(8): 2793–2801.
- [18] Duan K, Harvey ML, Liu CQ, *et al.* Identification and characterization of a mobilizing plasmid, pND300, in *Lactococcus lactis* M189 and its encoded nisin resistance determinant. *J Appl Bacteriol*, 1996, **81**(5): 493–500.
- [19] Dayem MA, Fleury Y, Devilliers G, *et al.* The putative immunity protein of the gram-positive bacteria *Leuconostoc mesenteroides* is preferentially located in the cytoplasm compartment. *FEMS Microbiol Lett*, 1996, **138**(2/3): 251–259.
- [20] Crandall A, Montville T. Nisin resistance in *Listeria monocytogenes* ATCC 700302 is a complex phenotype [In Process Citation]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**(1): 231–237.
- [21] Mazzotta AS, Crandall AD, Montville TJ. Nisin resistance in clostridium botulinum spores and vegetative cells. *Appl Environ Microbiol*, 1997, **63**(7): 2654–2659.
- [22] Ming X, Daeschel M. Nisin resistance of foodborne bacteria and the specific resistance responses of *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of Food Protection*, 1993, **56**(11): 944–948.
- [23] Gravesen A, Warthoe P, Knochel S, *et al.* Restriction fragment differential display of pediocin-resistant *Listeria monocytogenes* 412 mutants shows consistent overexpression of a putative beta-glucoside-specific PTS system. *Microbiology*, 2000, **146**(Pt 6): 1381–1389.
- [24] Xue J, Hunter I, Steinmetz T, *et al.* Novel activator of mannose-specific phosphotransferase system permease expression in *Listeria innocua*, identified by screening for pediocin AcH resistance. *Appl Environ Microbiol*, 2005, **71**(3): 1283–1290.
- [25] Cleveland J, Chikindas M, Montville TJ. Multimethod assessment of commercial nisin preparations. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2002, **29**(5): 228–232.
- [26] Appendini P, Hotchkiss J. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2002, **3**(2): 113–126.
- [27] Oscáriz J, Lasa I, Pisabarro A. Detection and characterization of cerein 7, a new bacteriocin produced by *Bacillus cereus* with a broad spectrum of activity. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, **178**(2): 337–341.
- [28] Diez-Gonzalez F. Applications of bacteriocins in livestock. *Curr Issues Intest Microbiol*, 2007, **8**(1): 15–23.
- [29] Sharma N, Gautam N. Use of bacteriocin as potential biopreservative in milk, cheese and apple juice. *Beverage and Food World*, 2007, **34**(7): 44–47.
- [30] Deegan L, Cotter P, Hill C, *et al.* Bacteriocins: biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *International Dairy Journal*, 2006, **16**(9): 1058–1071.
- [31] Terebiznik MR, Jagus RJ, Cerrutti P, *et al.* Combined effect of nisin and pulsed electric fields on the inactivation of *Escherichia coli*. *J Food Prot*, 2000, **63**(6): 741–746.