

Pinensine: Die ersten antimykotischen Lantibiotika

Kathrin I. Mohr, Carsten Volz, Rolf Jansen, Victor Wray, Judith Hoffmann, Steffen Bernecker, Joachim Wink, Klaus Gerth, Marc Stadler und Rolf Müller*

Abstract: Lantibiotika (Lanthionin enthaltende Antibiotika) aus Gram-positiven Bakterien wirken üblicherweise antibakteriell auf Gram-positive Keime. Wir beschreiben hier die Aktivität und Struktur der Pinensine A (**1**) und B (**2**), der ersten aus einem natürlichen, Gram-negativen Produzenten (*Chitinophaga pinensis*) isolierten Lantibiotika. Erstaunlicherweise zeigten Pinensine eine hohe Aktivität gegen zahlreiche filamentöse Pilze und Hefen, jedoch nur eine geringe antibakterielle Aktivität. Fungizide Lantibiotika wurden nach unserem Wissen bisher nicht beschrieben. Eine eingehende, bioinformatische Analyse des zugehörigen Biosynthesegenclusters bestätigte den ribosomalen Ursprung und ermöglichte die Identifizierung von weiteren Kandidatengen, die für alle notwendigen Funktionen zur posttranslationalen Modifikation kodieren. Zusätzliche kodierte Funktionen ermöglichten die Aufstellung einer ersten Hypothese zu Biosynthese, Export, Perzeption und letztlich Import dieses interessanten Lantibiotikums.

Vertreter der Genera *Chitinophaga* und *Flexibacter* sind bekannte Produzenten von Sekundärmetaboliten mit antimikrobieller Aktivität. Allerdings ist die Anzahl der aus diesen Spezies isolierten bioaktiven Substanzen sehr begrenzt: So weisen die Elansolide aus *Chitinophaga* gute Aktivitäten gegen Gram-positive Bakterien auf.^[1] Darüber hinaus wurde von einigen antibakteriell wirksamen Substanzen

sowie von Topoisomerase- oder Elastase-Inhibitoren aus verschiedenen *Flexibacter*-Spezies berichtet.^[2–5]

In unserem Screening nach bioaktiven Sekundärmetaboliten zeigte der Stamm *C. pinensis* DSM 28390 (= DSM 2588) eine starke antimykotische Aktivität. Durch aktivitätsgestützte Fraktionierung des Rohextraktes konnte die antimykotische Aktivität den beiden unbekannten Peptiden Pinensin A (**1**) und B (**2**) zugeordnet werden. Hier beschreiben wir Isolierung, Strukturaufklärung, biosynthetischen Ursprung und antimykotische Aktivität von **1** und **2**.

Die Kultivierung des Produzenten DSM 28390 und die Isolierung der Verbindungen wurde wie in den Hintergrundinformationen beschrieben durchgeführt. Die Strukturen beider Peptide wurden mittels NMR-Spektroskopie und HPLC–HR-ESI-MS aufgeklärt. **1** hat eine monoisotopische Masse von 2213.9622 Da mit der Summenformel $C_{96}H_{139}N_{27}O_{30}S_2$, gestützt durch die Detektion von $[M+3H]^{3+}$ - und $[M+2H]^{2+}$ -Ionen.^[6] Entsprechend hat **2** eine monoisotopische Masse von 2142.9251 Da mit der Summenformel $C_{93}H_{134}N_{26}O_{29}S_2$, die auf das Fehlen eines Alanin-Restes schließen lässt. Vergebliche Versuche zur Peptidsequenzierung wie auch zur Analyse der Ringtopologie durch MS/MS wiesen auf eine überlappende, intramolekulare Cyclisierung über Thioether hin.^[7]

Infolgedessen wurden 1D- und 2D-NMR-Spektroskopie sowie Edman-Analysen zur Strukturaufklärung genutzt. Diese Analysen zeigten, dass es sich bei **1** und **2** um von 22 bzw. 21 Aminosäuren (AS) abgeleitete, cyclische Lantipeptide handelt, die zwei je durch 3-Methylanthioninbrücken geschlossene und ineinander verflochtene Ringsysteme enthalten (Abbildung 1; weitere Informationen siehe Hintergrundinformationen).

Im Allgemeinen besteht die absolute Konfiguration der asymmetrischen Zentren in Abu-S-Ala-Einheiten aus (2*S*,3*S*,6*R*)-3-Methylanthioninen.^[10] Ausnahmen hiervon wurden im Fall von Cytolysin und Haloduracin beobachtet, die Methylanthionineinheiten mit abweichender stereochemischer Konfiguration der A-Ringe aufweisen.^[11] Im Fall von **1** und **2** konnte die gängige 2*S*,3*S*,6*R*-Konfiguration durch eine Kombination von GC-MS-Analyse mit einer Variante der Marfey-Methode (Advanced Marfey's Analysis) und eines Desulfurierungs-Ansatzes nachgewiesen werden (Abbildung 1a sowie Abschnitt 1.8.3 der Hintergrundinformationen).

Lantibiotika werden als posttranslational modifizierte Peptide ribosomalen Ursprungs verstanden, eine rasant wachsende Kategorie von Naturstoffen.^[12] Das erste Lantibiotikum Nisin wurde bereits 1928 beschrieben.^[13] Die frühen Lantibiotika wurden ausnahmslos aus Gram-positiven Produzenten isoliert und wirken hauptsächlich gegen Gram-positive Bakterien.^[14] Durch Genom-Mining konnten Biosyn-

[*] Dr. K. I. Mohr,^[‡] Dr. R. Jansen, Dipl.-Ing. S. Bernecker, Prof. Dr. M. Stadler
Mikrobielle Wirkstoffe, Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig (Deutschland)

Dr. C. Volz,^[‡] Dr. J. Hoffmann, Prof. Dr. R. Müller
Mikrobielle Naturstoffe, Helmholtz Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland, Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung und Pharmazeutische Biotechnologie
Universität des Saarlandes
Campus C2.3, 66123 Saarbrücken (Deutschland)
E-Mail: rom@helmholtz-hzi.de

Dr. V. Wray
Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung
Braunschweig (Deutschland)

Priv.-Doz. Dr. J. Wink, Dr. K. Gerth
Mikrobielle Stammsammlung, Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig (Deutschland)

Dr. K. I. Mohr,^[‡] Dr. C. Volz,^[‡] Dr. R. Jansen, Dr. J. Hoffmann, Dipl.-Ing. S. Bernecker, Priv.-Doz. Dr. J. Wink, Prof. Dr. M. Stadler, Prof. Dr. R. Müller
Deutsches Zentrum für Infektionsforschung (DZIF)
Standort Hannover-Braunschweig (Deutschland)

[‡] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (experimentelle Details) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201500927> zu finden.

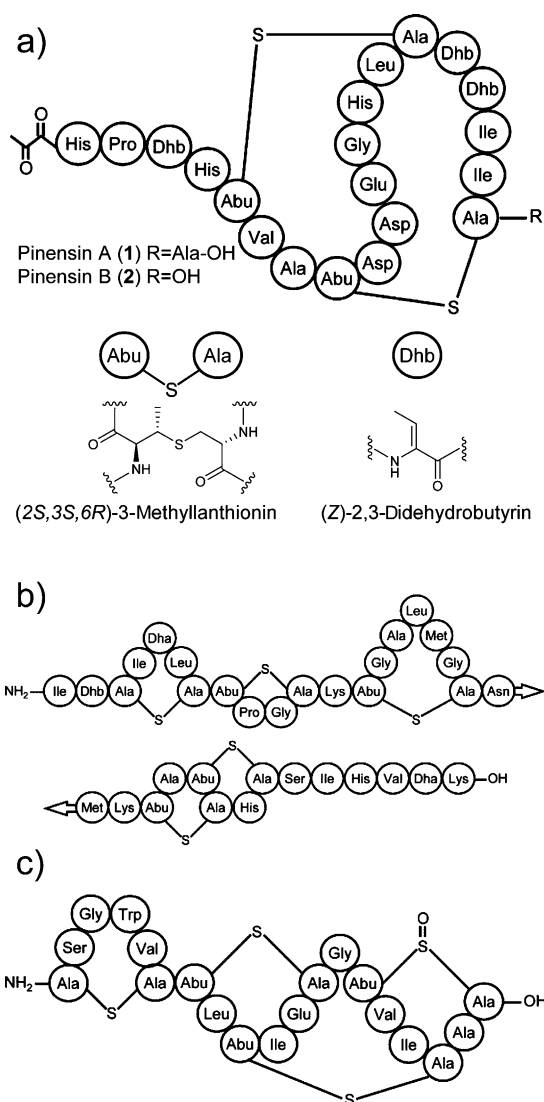


Abbildung 1. Strukturen von a) Pinensin, b) Nisin^[8] und c) Actagardine.^[9]

thesegencluster von Lantibiotika auch in einigen Gram-negativen Bakterien gefunden werden.^[15–17] Prochlorosin, ein Lantipeptid Gram-negativen Ursprungs, das heterolog produziert in Milligramm-Mengen aus *E. coli* gewonnen werden konnte, wurde zudem strukturell charakterisiert.^[7] Tatsächlich konnten in der vorliegenden Arbeit Pinensine im Gramm-Maßstab aufgereinigt werden, womit sie als die ersten aus einem nativen, Gram-negativen Produzenten isolierten Lantibiotika angesehen werden können.

Erstaunlicherweise zeigten **1** und **2** nur eine schwache Aktivität gegen Bakterien (Tabelle 1), wohingegen eine signifikante Inhibition von Pilzen und Hefen zu verzeichnen war. Als eine 1:1-Mischung zeigten die Pinensine eine eindeutige antimykotische Aktivität mit minimalen Hemmkonzentrationen (MHKs) zwischen 2.1 und 4.2 µg mL⁻¹ gegen Hefen und filamentöse Pilze.

Typische Lantibiotika wie Nisin^[8] (Abbildung 1b) enthalten abgesehen von mehreren Dehydroalanin(Dha)- und Dehydrobutyrin(Dhb)-Einheiten zusätzlich drei bis sechs

Tabelle 1: MHK in µg mL⁻¹ und IC₅₀ in µM einer 1:1-Mischung von **1** und **2** (1/2) sowie von Referenzsubstanzen (Ref.).

	1/2	Ref.
Mausfibroblasten L929	6.5	0.0038 ^[d]
Huvec	2.4	0.0004 ^[d]
KB 3.1 HeLa	6.5	0.0012 ^[d]
A431 epidermoides Karzinom	7.0	0.0006 ^[d]
SKOV-3-Ovarialkarzinom-Zellen	7.1	0.0004 ^[d]
<i>Escherichia coli</i> DSM 1116	n.i.	1.0 ^[a]
<i>Mycobacterium diernhoferi</i> DSM 43524	33.3	≤ 0.25 ^[a]
<i>Nocardia</i> sp. DSM 43069	33.3	0.83 ^[a]
<i>Staphylococcus aureus</i> DSM 346	n.i.	≤ 0.25 ^[a]
<i>Chromobacterium violaceum</i> DSM 30191	67	1.0 ^[a]
<i>Debaryomyces hansenii</i> DSM 3428	33.3	6.7 ^[b]
<i>Pichia membranifaciens</i> DSM 21959	4.2	0.83 ^[b]
<i>Rhodotorula glutinis</i> DSM 10134	2.1	< 0.25 ^[b]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BT27c-3 A	2.1	1.7 ^[b]
<i>Aspergillus clavatus</i> DSM 816	2.1	2.1 ^[b]
<i>Aspergillus flavus</i> DSM 1959*	4.2	1.0 ^[c]
<i>Aspergillus fumigatus</i> DSM 15966	4.2	< 0.25 ^[c]
<i>Botryotinia fuckeliana</i> DSM 877	4.2	3.3 ^[d]
<i>Epidermophyton floccosum</i> DSM 10709	16.6	0.25 ^[c]
<i>Hormoconis resinae</i> DSM 1203	2.1	< 0.25 ^[b]
<i>Mucor hiemalis</i> DSM 2656	2.1	2.1 ^[b]
<i>Penicillium capsulatum</i> DSM 2210	2.1	16.6 ^[b]
<i>Phytophthora drechsleri</i> DSM 62679	4.2	33.3 ^[b]

[a] Oxytetracyclin. [b] Nystatin. [c] Amphotericin B 1. [d] Epithilon A. n.i.: keine Inhibition; MIC = minimale Hemm-Konzentration; IC₅₀ = Inhibitor-Konzentration, bei der eine halbmaximale Inhibition beobachtet wird.

(Methyl-)Lanthionine.^[14] Actagardine, ein tetracyclisches Peptid aus 19 AS, enthält ein Lanthionin und drei überlappende 3-Methylanthioninbrücken (Abbildung 1c).^[9] Dagegen konnten in **1** und **2** lediglich zwei ineinander verflochtene 3-Methylanthioninringe nachgewiesen werden. Zusammen mit ihrer antimykotischen Aktivität und der außergewöhnlichen genomischen Organisation des Pinensin-Biosyntheseclusters (siehe unten) könnte diese Beobachtung auf eine neue (Unter-)Klasse von Lantibiotika hinweisen. Als posttranslationale Modifikationen (PTMs) konnten zusätzlich zur seltenen, den N-Terminus der Peptidkette maskierenden Brenztraubensäure noch drei DHB-Einheiten nachgewiesen werden. Die Brenztraubensäure-Schutzgruppe war zuvor bereits in den Lantibiotika Plantaricin W^[18] und Lactocin S^[19] identifiziert worden, wobei für deren Entstehung eine nach der Prozessierung der Leadersequenz erfolgte Umlagerung eines rekrutierten, N-terminalen 2,3-Didehydroalanins angenommen wurde. Lactocin S weist ebenfalls nur zwei, allerdings nicht verflochtene Methylanthioninringe auf, obwohl es aus 37 AS-Resten besteht.

Der Teil des mutmaßlichen Vorläuferpeptids eines Lantibiotikums, aus dem das aktive, geschnittene Peptid hervorgeht, ist vorhersagbar.^[20] Die D-Konfiguration des Abu entsteht aus L-Thr, Ala-S aus L-Cys, die DHB-Einheiten resultieren aus L-Thr, und der Brenztraubensäurerest wird über 2,3-Didehydroalanin aus L-Ser oder L-Cys gebildet. Folglich sollte der Vorläufer von **1** und **2** M[leader]-S/CHPTHTVATDDQGHLCCTTIIC(A) sein. Da für **1** und **2** ein ribosomaler Ursprung angenommen wurde, musste dieses Vorläuferpeptid im Genom des Produzenten kodiert sein, das

2010 publiziert wurde.^[21] In einer Blast-Analyse^[28] wurde die oben abgeleitete Aminosäuresequenz als Suchparameter eingesetzt. So konnte ein offener Leserahmen (ORF), der diese Sequenz enthält, identifiziert werden: *cpin_5325* kodiert für ein 62-AS-Vorläuferpeptid von **1**. Demzufolge wurde *cpin_5325* in *pinA* umbenannt. Kein weiterer ORF, welcher der vorhergesagten Sequenz des Vorläuferpeptids von **2** entsprach, konnte in dieser Analyse gefunden werden, was auf eine Entstehung von **2** aus **1** über weitere PTM schließen lässt.

Das Vorhandensein der AS-Sequenz von **1** in *PinA* deutet darauf hin, dass die genomische Region um *pinA* für weitere Funktionen kodiert, die zur Biosynthese notwendig sind. Trotz intensiver Versuche konnten wir bisher kein Verfahren für die genetische Manipulation des Produzenten entwickeln. Folglich können Voraussagen zur Biosynthese momentan lediglich auf Basis einer Computer-gestützten Genanalyse getroffen werden. Dennoch gibt die Kombination der Struktur der Pinensine und ihrer hypothetischen Biosynthese einen ersten wertvollen Einblick in Biosynthese und Export eines von einem Gram-negativen Bakterium produzierten, antimykotischen Lantibiotikums.

Stromabwärts von *pinA* kodieren *cpin_5326*, *cpin_5327* und *cpin_5328* für eine mutmaßliche LanC-artige Cyclase bzw. eine mutmaßliche Lanthionin-Dehydratase (Abbildung 3; zur Domänenanalyse siehe Abbildung S25 der Hintergrundinformationen). Die entsprechenden *lan*(lantibiotic)-Gene nach de Vos et al.^[22] wären hier *lanC*, *lanB2* und *lanB1*, wobei *lan* als Platzhalter für die vom Namen des entsprechenden Lantibiotikums abgeleitete Bezeichnung steht. Diese Genprodukte sind wahrscheinlich für die ersten beiden Modifizierungsschritte verantwortlich, nachdem das Vorläuferpeptid *PinA* synthetisiert wurde (Abbildung 2): *PinB1* und *PinB2* dehydratisieren die Aminosäuren. Die Lanthionin-Synthetase *PinC* bildet wahrscheinlich den Thioether. Bei *PinB1* und *PinB2* könnte es sich um ein aufgespaltenes „split LanB“-Protein handeln. Diese Annahme basiert auf der Ähnlichkeit von *PinB1* und *PinB2* zu *NisB*, das kürzlich von Ortega et al. charakterisiert wurde.^[23] *PinB1* wäre hier für die Aminoacylierung verantwortlich und *PinB2* zur Bildung der Dehydroamino-säure befähigt. Solche „split LanB“-Proteine wurden in Thiopeptidclustern beschrieben, nach unserem Wissen jedoch bisher nicht in Biosynthesegenclustern von Lantibiotika.

cpin_5329 hat die notwendigen Domänen zum Export und zur Abspaltung der Leadersequenz der modifizierten Peptide *mPinA* und *mPinB*, was andeutet, dass für beide Schritte dieses eine Protein verantwortlich ist. Infolgedessen bezeichnen wir dieses Gen als *pinT*, entsprechend einer Export- und Peptidasefunktion wie bei *LanT*. Es scheint hier keine eigenständige Peptidasefunktion kodiert zu sein. Die Gene *pinA* bis *pinT* werden von uns als das Kerncluster der Pinensin-Biosynthese angesehen.

Basierend auf dieser genetischen Organisation des Clusters können **1** und **2** den Lantibiotika der Klasse I zugeordnet werden.^[24,25] Dahingegen weisen Export und Spaltung des Präpeptids durch ein Protein *LanT* auf das Vorliegen eines Klasse-II-Lantibiotikums hin.

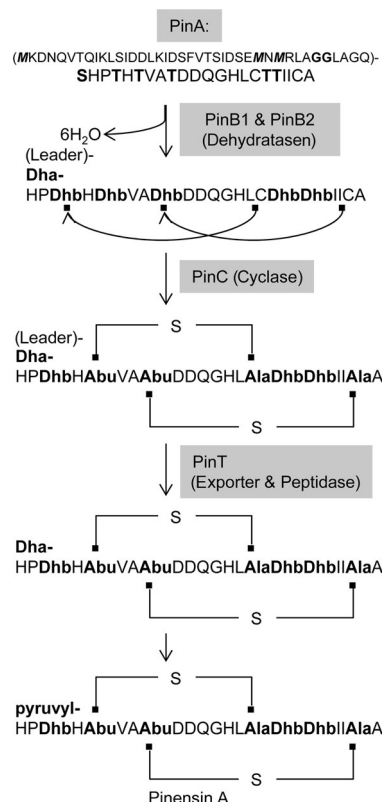


Abbildung 2. AS-Sequenz von *PinA* und vorgeschlagener Beitrag der *pin*-Genprodukte zur Pinensin-Biosynthese. Eingeklammert: N-terminale Leadersequenz von *PinA*. Fett-kursiv: vermutete N-terminale Methionine. Fett: Das Doppel-Glycin-Leadermotiv. Erklärungen siehe Text.

Wir vermuten, dass **2** aus **1** durch PTM hervorgeht. Eine entsprechende enzymatische Funktion sollte folglich im Genom kodiert sein, wobei es sich hier um *Cpin_5319* handeln könnte, das einen großen Teil einer COG5661-Domäne Zn-abhängiger Proteasen enthält. Dieses Protein weist das notwendige HExxH-Motiv auf, das Teil der Metallionen-Bindestelle der Metalloproteasen ist.^[26] Pinensine zeigen hauptsächlich eine antimykotische Aktivität – folglich ist ein Selbstresistenzmechanismus nicht unbedingt notwendig, was das Fehlen einer in der näheren Umgebung der *pin*-Gene kodierten Resistenzdeterminante, beispielsweise in Form von Transport- oder Immunitätsproteinen, erklären würde.^[27] Allerdings kodieren viele der nahe der *pin*-Region liegenden Gene für alternative Transportmechanismen oder Rezeptorfunktionen (Abbildungen 3 und S25) – interessante Kandidaten also, um beispielsweise eine erste globale Hypothese zu Biosynthese, Export und auch Perzeption der Pinensine aufzustellen. Die zusammenhängende Erklärung derartiger Mechanismen ist von großem Interesse, da Pinensine von einem Gram-negativen Bakterium synthetisiert werden und höchstwahrscheinlich zu groß sind, um ungehindert die äußere Membran (OM) zu passieren. Aus diesem Grund ist aller Voraussicht nach ein zusätzlicher Exportmechanismus zum Überwinden dieser Barriere vonnöten. Basierend auf den vorhergesagten Domänen aller mutmaßlichen, in der näheren Umgebung des Kernclusters kodierten Proteine kann eine erste Prognose zur subzellulären Lokalisation oder

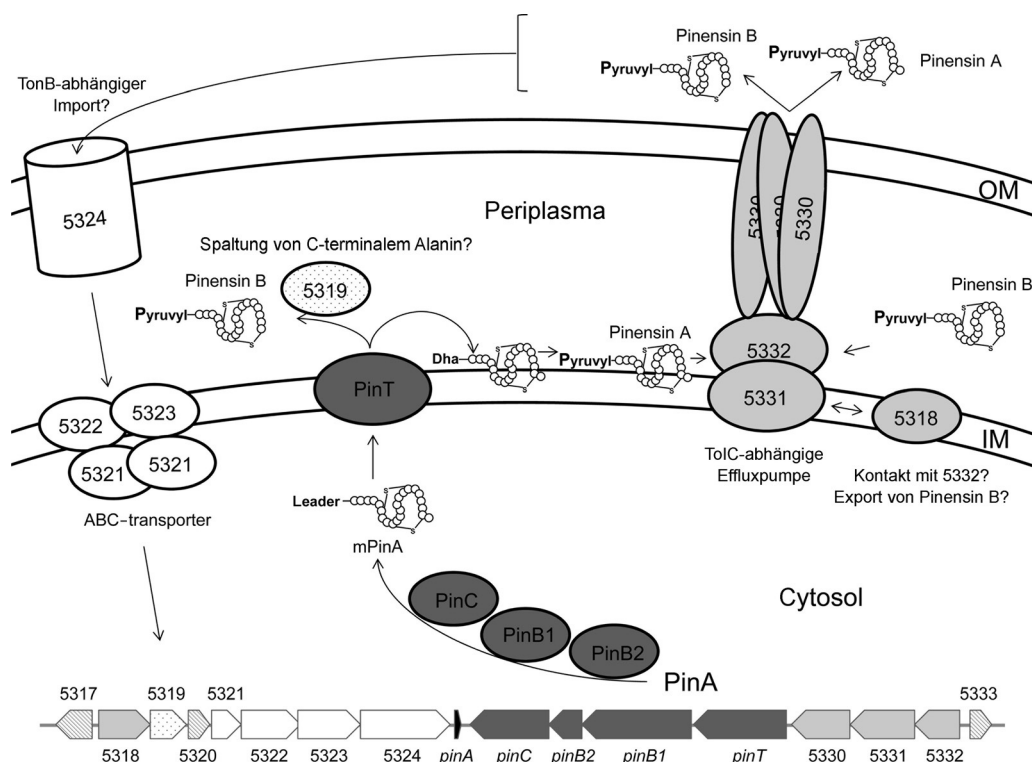


Abbildung 3. Hypothese zur Pinensin-Biosynthese und zum Transmembrantransport. Die vorgeschlagene Lokalisierung und Funktion von Proteinen sind in einem Schnitt der Zellhülle gezeigt. Die genomische Organisation des gesamten vermuteten Pinensin-Genclusters ist im unteren Teil aufgeführt. Gene sind als Pfeile dargestellt. Protein- oder Gennamen wurden mit den entsprechenden Nummern vereinfacht dargestellt. Erklärungen siehe Text.

auch zur Funktion der entsprechenden Proteine erstellt werden: Die Aktivitäten von cytosolisch vorliegendem PinB1, PinB2 und PinC führen zur Bildung von mPinA, das im Anschluss durch PinT in das Periplasma exportiert und gleichzeitig gespalten wird, womit letztlich **1** entsteht. Der angenommene aktive Transport über die OM könnte durch eine TolC-abhängige Effluxpumpe erfolgen, die stromaufwärts von *pinT* kodiert ist. Diese Exportpumpe könnte aus der Major-Facilitator-Transmembran-Untereinheit (MFS) Cpin_5331 in der inneren Membran (IM), der HlyD-artigen Untereinheit Cpin_5332 (Membrane Fusion Subunit) sowie drei Kopien des TolC-artigen Cpin_5330 in der OM bestehen. Inwiefern Pinensine wirklich durch diesen Mechanismus exportiert werden, muss jedoch noch durch weitere Experimente überprüft werden. Interessanterweise wird in diesem Zusammenhang durch *cpin_5318* eine weitere, einzelständige MFS-Untereinheit kodiert. Vor dem Hintergrund der vorhergesagten Lokalisation des mutmaßlich an der Umwandlung von **1** nach **2** beteiligten Enzyms Cpin_5319 und der Beobachtung, dass **2** im Kulturüberstand vorhanden ist, muss diese Reaktion im Periplasma stattfinden. Damit könnte eine weitere separate Exportfunktion unter Beteiligung von Cpin_5318 über die OM notwendig sein. Zu guter Letzt könnte der durch *cpin_5324* kodierte TonB-abhängige Rezeptor in eine Perzeption von extrazellulärem Pinensin involviert oder aber im Zusammenspiel mit dem mutmaßlichen ABC-Transporter (kodiert von *cpin_5321*, *cpin_5322* und *cpin_5323*) sogar an einem Import von **1** und **2** in das Cytosol

beteiligt sein. Ein solcher Mechanismus könnte zur Perzeption, zur Kontrolle der extrazellulären Pinensinkonzentration und zur Ermöglichung eines entsprechenden Feedbacks auf die Genexpression vonnöten sein. Keine hypothetische Rolle konnte hingegen Cpin_5320 zugeordnet werden. Aufgrund der vorhandenen Domänen könnte dieses Protein jedoch im Bereich der IM vorliegen. Bislang beruhen alle vorgestellten Funktionen auf Computer-gestützten Vorhersagen, allerdings sprechen sämtliche bereits zuvor genannten Fakten dafür, dass die Gene der beiden transkriptionellen Regulatoren Cpin_5317 und Cpin_5333 die Grenzen des Pinensin-Genclusters darstellen – insbe-

sondere deshalb, weil beide antimykotisch wirkenden Pinensine extrazellulär vorliegen, sie aus einem Gram-negativen Bakterium stammen und alle zuvor beschriebenen putativen Funktionen unmittelbar stromab- oder stromaufwärts der *pin*-Gene kodiert sind. Diese Behauptung muss natürlich experimentell bestätigt werden, sobald ein Verfahren zur genetischen Manipulation von *Chitinophaga* vorliegt.

Unter Berücksichtigung aller hier präsentierten Daten könnten die Pinensine als eine neue (Unter-)Klasse von Lantibiotika mit beispielloser biologischer Aktivität angesehen werden. Ihre weitere Erforschung eröffnet eine Reihe interessanter Möglichkeiten für zukünftige Forschung zur biochemischen Aufklärung der Biosynthese, ihrer heterologen Expression und ihrer Wirkungsweise. Durch laufende Arbeiten mit dieser Zielsetzung erhoffen wir uns, dass die Entdeckung antimykotischer Lantibiotika letzten Endes zu dringend notwendigen und neuartigen therapeutischen Verfahren für die Behandlung von Pilzinfektionen führen wird.

Stichwörter: Biosynthese · *Chitinophaga pinensis* · Fungizide · Gram-negative Bakterien · Lantibiotika

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 11254–11258
Angew. Chem. **2015**, *127*, 11406–11410

[1] R. Jansen, K. Gerth, H. Steinmetz, S. Reinecke, W. Kessler, A. Kirschning, R. Müller, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 7739–7744.

- [2] N. Katayama, Y. Nozaki, K. Okonogi, H. Ono, S. Harada, H. J. Okazaki, *J. Antibiot.* **1985**, 38, 1117–1127.
- [3] R. Cooper, K. Bush, P. A. Principe, W. H. Trejo, J. S. Wells, R. B. Sykes, *J. Antibiot.* **1983**, 36, 1252–1257.
- [4] a) Y. Ikegami, N. Takeuchi, M. Hanada, Y. Hasegawa, K. Ishii, T. Andoh, T. Sato, K. Suzuki, H. Yamaguchi, S. Miyazaki, K. Nagai, S. Watanabe, T. Saito, *J. Antibiot.* **1990**, 43, 158–162; b) K. Suzuki, H. Yamaguchi, S. Miyazaki, K. Nagai, S. Watanabe, T. Saito, K. Ishii, M. Hanada, T. Sekine, Y. Ikegami, T. Andoh, *J. Antibiot.* **1990**, 43, 154–157.
- [5] a) M. Orita, K. Yasumuro, K. Kokubo, M. Shimizu, K. Abe, T. Tokunaga, H. Kaniwa, *J. Antibiot.* **1995**, 48, 1430–1434; b) K. Yasumuro, Y. Suzuki, M. Shibasaki, K. Teramura, K. Abe, M. Orita, *J. Antibiot.* **1995**, 48, 1425–1429.
- [6] Für das Vorkommen von Schwefel spricht die Elementaranalyse von **1**.
- [7] W. Tang, W. A. van der Donk, *Biochemistry* **2012**, 51, 4271–4279.
- [8] H. Brötz, H.-G. Sahl, *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**, 46, 1–6.
- [9] N. Zimmermann, J. W. Metzger, G. Jung, *Eur. J. Biochem.* **1995**, 228, 786–797.
- [10] P. J. Knerr, W. A. van der Donk, *Annu. Rev. Biochem.* **2012**, 81, 479–505.
- [11] W. Tang, W. A. van der Donk, *Nat. Chem. Biol.* **2013**, 9, 157–159.
- [12] P. G. Arnison et al., *Nat. Prod. Rep.* **2013**, 30, 108–160.
- [13] L. A. Rogers, *J. Bacteriol.* **1928**, 16, 321–325.
- [14] J. Dischinger, S. Basi Chipalu, G. Bierbaum, *Int. J. Med. Microbiol.* **2014**, 304, 51–62.
- [15] B. Li, D. Sher, L. Kelly, Y. Shi, K. Huang, P. J. Knerr, I. Joewono, D. Rusch, S. W. Chisholm, W. A. van der Donk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, 107, 10430–10435.
- [16] M. Begley, P. D. Cotter, C. Hill, R. P. Ross, *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, 75, 5451–5460.
- [17] M. Singh, D. Sareen, *PLOS ONE* **2014**, 9, e91352.
- [18] H. Holo, Z. Jeknic, M. Daeschel, S. Stevanovic, I. F. Nes, *Microbiology* **2001**, 147, 643–651.
- [19] M. Skaugen, J. Nissenmeyer, G. Jung, S. Stevanovic, K. Sletten, C. I. M. Abildgaard, I. F. Nes, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 27183.
- [20] G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1051–1192; *Angew. Chem.* **1991**, 103, 1067–1084.
- [21] T. Glavina Del Rio et al., *Stand. Genom. Sci.* **2010**, 2, 87–95.
- [22] W. de Vos, G. Jung, H.-G. Sahl, in *Nisin and Novel lantibiotics*, (Hrsg.: G. Jung, H. G. Sahl), Escom, Leiden, 1991, S. 457–463.
- [23] M. A. Ortega, Y. Hao, Q. Zhang, M. C. Walker, W. A. van der Donk, S. K. Nair, *Nature* **2015**, 517, 509–512.
- [24] U. Pag, H.-G. Sahl, *Curr. Pharm. Des.* **2002**, 8, 815–833.
- [25] J. M. Willey, W. A. van der Donk, *Annu. Rev. Microbiol.* **2007**, 61, 477–501.
- [26] N. D. Rawlings, A. J. Barrett, *Methods Enzymol.* **1995**, 248, 183–228.
- [27] L. A. Draper, R. P. Ross, C. Hill, P. D. Cotter, *Curr. Protein Pept. Sci.* **2008**, 9, 39–49.
- [28] <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>.

Eingegangen am 9. Februar 2015,
veränderte Fassung am 26. Mai 2015
Online veröffentlicht am 24. Juli 2015