

И. А. Хусаинов

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О БИОСИНТЕЗЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ

Ключевые слова: бактериальные экзополисахариды, биосинтез.

Рассмотрены бактериальные экзополисахариды, строение, клеточный биосинтез, свойства.

Keywords: bacterial exopolysaccharides biosynthesis.

Considered bacterial exopolysaccharides, structure, biosynthesis of cell properties.

Актуальность. Бактериальные экзополисахариды (БЭПС) используются для увеличения нефтедобычи, упаковки продуктов питания, в составе косметических средств, для капсулирования лекарственных препаратов и биоактивных компонентов (антиоксиданты, витамины, пробиотики и т.д.) с целью сохранения их свойств. Перспективно также применение БЭПС в области кормления животных в качестве пребиотиков, носителей биологически активных веществ (БАВ) [1, 2]. Перспектива промышленного применения БЭПС обуславливает необходимость исследований в области биосинтеза бактериальных экзополисахаридов, которые посвящены изучению их состава, структуре, функциональным свойствам и микроорганизмам-продуцентам [3, 4, 5, 6].

Классификация. Внеклеточные БПС могут быть объединены в 4 группы: полисахариды, неорганические полиангидриды, полиэферы и полиамиды [7]. В настоящей работе рассмотрен биосинтез полисахаридов молочнокислых бактерий с перспективой применения их в кормлении сельскохозяйственных животных.

Бактериальные внеклеточные полисахариды или экзополисахариды являются самыми распространенными компонентами внеклеточных биополимеров, выполняя различные функции. Согласно функциональным признакам БЭПС классифицируются на несколько категорий: структурные, сорбционные, поверхностно-активные, информационные, с окислительно-восстановительной активностью и нутриционные [8, 9].

С точки зрения химического состава различают гомо- и гетерополисахариды (ГеПС). Глюканы (α -D и β -D), фруктаны и галактаны – основные мономеры в гомополисахаридах, связанных, как правило, β -1,4 или β -1,3 и α -1,2 или α -1,6 связями. Первые наделяют полимеры свойствами жесткости, вторые обеспечивают гибкость молекул.

Гетерополисахариды образованы D-глюкозой, D-галактозой, L-рамнозой, например, в случаях N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), N-ацетилгалактозамин (GalNAc) или глюкуроновой кислоты (GlcA). Основные связи мономеров представлены теми же связями, что и гомополисахаридов.

Научный и практический интерес представляют биополимеры, ассоциируемые с колониями бактерий и клетками, объединенные термином биопленка [8]. Понятие биопленка объединяет в себе

биополимеры, секретируемые клеткой. Основные функции биопленки – адгезия клеток, защитные функции, способность к миграции, жизнь в сообществе с другими клетками (коллективное чувство) [9, 10].

Формирование биопленки зависит от свойств бактериальной клетки, свойств поверхности и состава питательной среды. Биопленки имеют большое значение в различных промышленных процессах, таких как производство бумаги, пищевой промышленности, медицине [11, 12].

Полисахариды молочнокислых бактерий. Молочнокислые бактерии (МКБ) – грамм положительные палочки или кокки, неспорообразующие, кислотоустойчивые, анаэробные или микроаэрофильные бактерии. Широко известные МКБ – *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. Менее известные – *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Teragenococcus*, *Vagococcus* и *Weissella*.

Различают гомоферментативные (катаболизм глюкозы по пути Эмбдена-Меергофа-Парнаса: *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* и *lactobacilli*, как *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. salivarius*) и гетероферментативные МКБ- (пентозофосфокетотазный путь с производством этанола и молочной кислоты: *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* и *lactobacilli* как *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum* и *L. reuteri*) [13].

Экзополисахариды МКБ подразделяются на 2 гр: гомополисахариды (мономер D-глюкоза или D-фруктоза), как например, декстран, мутан, альтернан, реутеран, пуллулан, леван, инулин, курдлан и гетерополисахариды: геллан, ксантан, кефиран.

Декстран образуется в результате гидролиза сахарозы *Leuconostoc mesenteroides*. Представляет собой гомополисахарид с α -1,6 гликозидной связью основной цепи и α -1,2, α -1,3 и α -1,4 связями боковых цепей.

Леван – фруктан со связью β -2,6 основной цепи и β -2,1 боковыми цепями. Продуценты левана *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F, *Lactobacillus sanfranciscensis* LTH 2590 и *Lactobacillus reuteri* LB 121.

Инулин – фруктоолигосахарид со связью β -1,2. *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 синтезирует высокомолекулярный инулин из сахарозы ферментом инулосахаразы. Также вырабатывается *Strepto-*

coccus mutans JC2, *Leuconostoc citreum* CW28 и *Lactobacillus reuteri* 121.

Альтернан. Штаммы производители альтернансахаразы – *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1355, NRRL B-1501 and NRRL B-1498. Альтернан содержит чередующиеся α -1,6 и α -1,3 связи, с α -1,3 ответвлениями. Альтернан обладает хорошей растворимостью, низкой вязкостью и устойчивостью к ферментативному гидролизу. Олигосахара альтернана, полученные деполимеризацией альтерназой используются как низкогликемические подсластители в кондитерском производстве и как пребиотики.

Реутеран - водорастворимый глюкан, получаемый реутерансахаразой. С ММ 40 МДа, производится штаммом *Lactobacillus reuteri strain* LB 121, содержит 70 % α -1,4 и α -1,6 гликозидные связи.

Биосинтез гетерополисахаридов происходит на различных стадиях роста МКБ. Выход и тип ГеПС регулируется условиями роста. Структурно ГеПС могут быть вязкими или слизистыми. Молекулярная масса ГеПС в диапазоне 1.0×10^4 и 6.0×10^6 Da [14, 15].

Кефиран - водорастворимый гетерополисахарид, производимый *Lactobacillus kefiranofaciens*, *L. kefirgranum*, *L. parakefir*, *L. kefir* и *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. Содержит примерно одинаковое количество глюкозы и галактозы. Кефиран инкапсулирует МКБ, уксуснокислые бактерии и дрожжи, улучшает вязкостно-эластичные свойства кисломолочных гелей [16].

Экзополисахариды способны оказывать огромное влияние на обмен веществ в организме животных и человека, в частности на липидный обмен, концентрацию глюкозы, обмен минеральных веществ, на развитие собственной микрофлоры и др. Обладая большим воздействием на иммунную систему, БЭПС стимулируют выработку антител и формирование иммунного ответа. Показано, что БЭПС молочнокислых бактерий оказывают положительное влияние на количество иммуноглобулинов и цитокинов [17].

Экзополисахариды молочнокислых бактерий *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 (101EP) и *Lactobacillus plantarum* NTU 102 (102EP) стимулируют макрофаги к выработке цитокинов (IL-6, TNF- α , and IL-1 β) в количестве 5-500 μ g mL⁻¹. Также эти штаммы демонстрируют антиоксидантные свойства: связывание радикалов, хелатирование ионов железа, ингибирование окисления линолевой кислоты [18]. Отмечен положительный эффект БПС кефирных грибов (кефирана) на липидный обмен, артериальное давление, содержание глюкозы в крови [19]. Курдланы и гелланы ингибируют метаболизм липидов, влияют на кишечное брожение и экскрецию жирных кислот у крыс [20]. БЭПС оказывают терапевтическую роль в лечении заболеваний пищеварительной системы [21]. Бета-глюканы бактериального происхождения (*P. Parvulus*) способны стимулировать рост и развитие пробиотических молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum*, демонстрируя симбиотический эффект. В присутствии БЭПС молочнокислые бактерии вырабатывают ферменты, способные их расщеплять [22]. БЭПС

усиливают адсорбцию молочнокислых бактерий к эпителиальным клеткам кишечника [23]. Некоторые виды микроорганизмов, как например, *Bacillus licheniformis* способны продуцировать так называемые анти-биопленки, которые ингибируют формирование биопленки у многих патогенных и непатогенных бактерий [24].

Экзополисахариды молочнокислых бактерий (МКБ) обладают антиопухолевыми, иммуностимулирующими свойствами, снижают содержание и активность холестерина в крови [25]. БЭПС способствует колонизации кишечника пробиотическими бактериями как *Bifidobacteria* and *Lactobacilli*, усиливают иммунитет против патогенов, снижают содержание мутагенных ферментов, таких как бета-глюкоуридазу, нитроредуктазу, и хологлицин гидролазу [26]. Кроме того, МКБ вырабатывают бактериоцины, ингибирующие грамположительные патогенные и спорообразующие бактерии.

Все эти свойства делают БЭПС микробного происхождения и особенно БЭПС молочнокислых бактерий потенциальными кандидатами для производства функциональных полисахаридов и олигосахаров, привлекая огромный практический интерес. Несколько подробнее рассмотрим основные пути биосинтеза БЭПС клеткой и технологические особенности промышленного производства БЭПС.

Экзополисахариды молочнокислых бактерий. Биосинтез БЭПС. Большинство БЭПС синтезируется внутриклеточно, а затем выделяются в окружающую среду в виде макромолекул. Однако, некоторые БЭПС (в частности, декстран, леван) производятся внеклеточно ферментами, выделяемыми клетками, которые конвертируют субстрат в полимерные молекулы [27]. Бактериальный биосинтез включает потребление субстрата, центральные метаболические пути и синтез полисахаридов (рис.1) [14].

В зависимости от типа субстрата, клетка использует активную или пассивную систему транспортировки, с последующим внутриклеточным фосфорилированием или прямым периплазматическим окислением. Переплазматическое окисление характерно только ограниченному числу бактерий. В цитоплазме происходит гликолиз субстрата с образованием метаболитов, которые выполняют функции прекурсоров для синтеза малых биомолекул (аминокислоты, моносахариды). Для синтеза полисахаридов необходим биосинтез активных прекурсоров, таких как энергонасыщенные моносахариды, главным образом НДФ-сахара (нуклеозиддифосфат), получаемые фосфорилированием сахаров.

Ключевым промежуточным соединением, связывающим анаболические пути образования БЭПС и катаболические пути разложения сахаров, является глюкозо-6-фосфат, в котором поток углерода разветвляется на фруктозо-6-фосфат в сторону продуктов гликолиза, образования биомассы и АТФ и в сторону биосинтеза сахарных нуклеотидов – прекурсоров БЭПС. Фосфоглютокмутаза (ФГМ), участвующая в конверсии глюкозо-6-фосфат в глюкозо-1-фосфат играет важную роль в распределении

потоков между катаболическими и анаболическими путями.

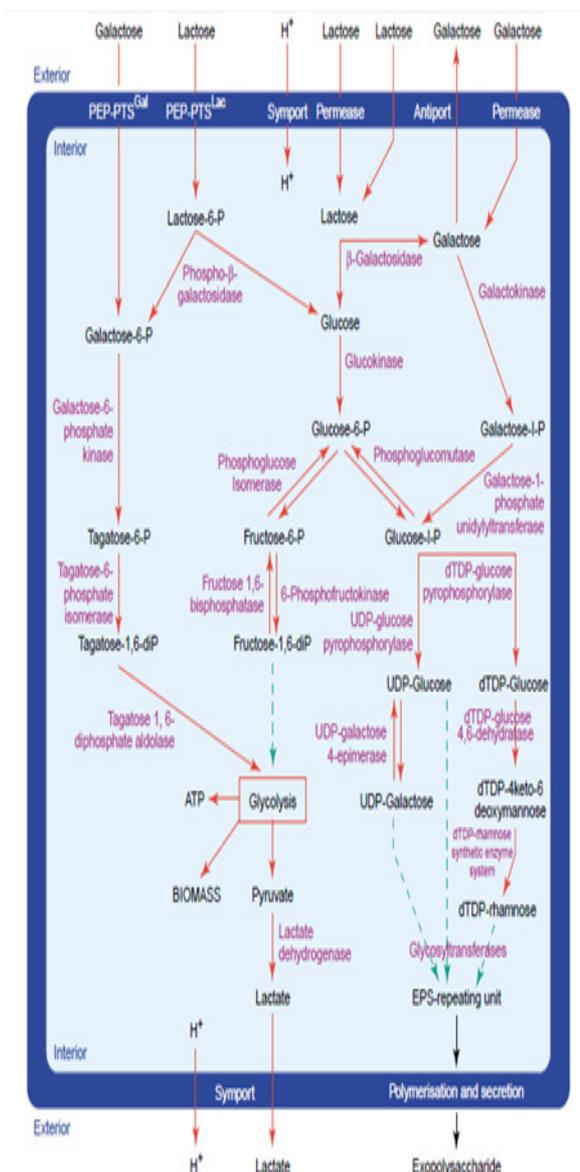


Рис. 1 - Упрощенная схема конверсии лактозы, галактозы и глюкозы в ЭПС и гликолиза МКБ

Глюкоза-1-фосфат является точкой ветвления между образованием УДФ - глюкоза (уридиндифосфат-глюкоза) и ТДФ - глюкоза (тирозиндифосфат-глюкоза) в результате действия УДФ - глюкозо пиродифосфорилазы и ТДФ - глюкозопиродифосфорилазы. Отметим, что эти нуклеосахара служат для формирования различных полисахаридов в клетке и ферменты, участвующие в их формировании являются общими («housekeeping enzymes»).

Секреция БЭПС сложный процесс, в котором гидрофильные высокомолекулярные полимеры из цитоплазмы должны пройти сквозь клеточную стенку, не нарушив ее свойства. Несмотря на многообразие молекулярных структур БЭПС, пути биосинтеза и экспорта у большинства грамотрицательных бактерий осуществляются по одному из двух механизмов (рис.2): Wzx-Wzy-зависимый путь, при котором полимерные единицы располагаются на

внутренней поверхности цитоплазматической мембраны, а полимеризация происходит в периплазме и АВС-зависимый путь, в котором полимеризация осуществляется на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны [5, 7].

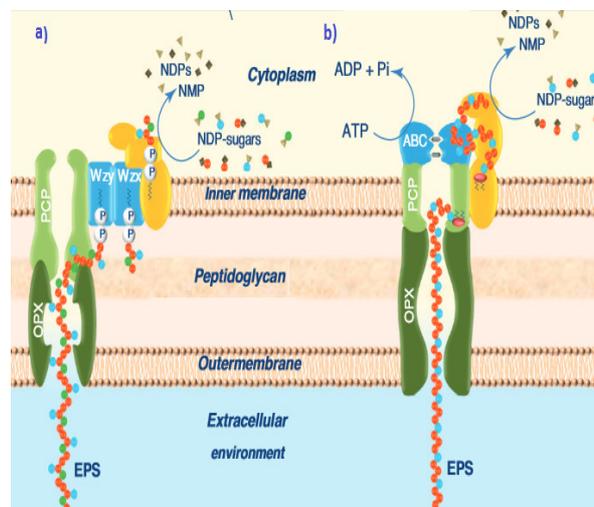


Рис. 2 - Механизм секреции биополимера
a) Wzx-WZY-зависимый путь
b) АВС-зависимый путь

В Wzx-WZY-зависимой системе (а), повторяющиеся участки синтезируются последовательной передачей моносахаридов от НДФ-сахаров к полипренилфосфатным липидным носителям. Образованные повторяющиеся звенья транспортируются через внутреннюю мембрану, предположительно, на флиппазе (Wzx) в периплазматическую поверхность, где полимеризация протекает под действием полимераз (Wzy). У многих бактерий путь транслокации формируется с помощью полисахаридсополимеразы (PCP на рисунке), которая определяет длину полимерной цепи и протеина (OPX на рисунке), который образует канал экспорта полисахарида через мембрану на наружную поверхность.

В АВС-зависимой транспортной системе (b) полисахарид полимеризуется на цитоплазматической поверхности внутренней мембраны путем последовательного добавления остатков сахаров на невосстанавливающий конец полимерной цепи. Полимер экспортируется через внутреннюю мембрану посредством АВС-транспортера с последующей его транслокацией через периплазму и наружную мембрану посредством PCP и OPX белков.

Гены, участвующие в синтезе гетерогенных полисахаридов МКБ обычно организованы в кластеры, которые локализованы или в хромосомах (термофильные МКБ) или в плазидах (мезофильные МКБ). Гены ориентированы в одном направлении и транскрибируются как мРНК. Гены в кластерах сгруппированы в 4-х участках: в первом содержатся гены, которые ответственны за продукцию регуляторных белков; второй содержит гены, кодирующие белки, вовлеченные в полимеризацию; третий – содержит гены, кодирующие ферменты, участвующие в биосинтезе мономеров ГетПС и гены четвертого участка, кодируют белки, участвующие в

транспорте и полимеризации [28]. Представлена организационная структура ключевых генов и оперонов, участвующих в биосинтезе БПС [7] и сравнение генных кластеров нескольких видов штаммов молочнокислых бактерий [29].

Манипулирование генами, вовлеченными в экспорт, полимеризацию полисахаридов позволяет находить пути повышения продуктивности штаммов, изменения структуры БЭПС. Одним из инструментов в достижении этих целей служат методы управления клеточным метаболизмом или инжиниринг метаболических путей клетки. Стратегия заключается в управление основными элементами, участвующими в синтезе БЭПС (доноры, акцепторы, ферменты - гликозилтрансферазы). Регенерация нуклеосахаров (уридиндифосфат, гуанозиндифосфат и др.), контролируемая гликозилтрансферазами (зачастую, полученные рекомбинацией от других бактерий) занимает центральное место в данном способе. Акцепторы, участвующие в синтезе полисахаридов генерируются введением ответственных за их синтез ферментов или манипуляцией с оперонами их катаболизма [30]. Применение методов инжиниринга метаболических путей позволяет многократно увеличить продуктивность штаммов [31, 32] и легко воспроизводимы в промышленных масштабах.

С целью изменения структуры полимеров применяют метод молекулярного моделирования, который, в частности, использован при конструировании конформационной модели гетерополисахарида и синтеза его бактерией *L. Helveticus 766* [33]. Дизайн полисахаридов находится на начальном этапе и сводится пока только к контролю структуры БЭПС посредством гликозилтрансфераз. Потенциал в контроле формирования структуры БЭПС заключен в вводе новых или существующих гликозилтрансфераз в гены МКБ. Например, два гена, *dsr S* и *dsrT5* *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F, образующих декстрансахаразу были экспрессированы в *Escherichia coli*. Рекомбинированная *dsrT5* декстрансахараза продуцировала водонерастворимый декстран, в то время, как нативный декстран *L. mesenteroides* B-512F является водорастворимым. Нерастворимый декстран содержал 50 % α -1,6 связи и 40 % α -1,3, а также α -1,4 связи. Количество α -1,4 связей увеличивалось, когда декстрансахаразе, синтезирующей водонерастворимый декстран, добавлялся усеченный фермент, без С-терминала, образующий водонерастворимый декстран [34].

Значительное внимание уделено исследованиям ферментов, участвующих в синтезе полисахаридов, среди которых большое практическое значение имеют ферменты, способные синтезировать БЭПС экзогенно, в частности глюкансахаразы (ГС) и фруктансахаразы (ФС) - трансгликозидазы, участвующие в синтезе альфа-глюканов и фруктанов. Согласно классификации к глюкансахаразам относятся декстрансахараза (куда относятся также мутансахаразы и реутерансахаразы) и альтерансахараза; к фруктансахаразам соответственно инулосахараза и левансахараза [35].

Эти ферменты состоят из 4-х структурных доменов от N до С терминалов:

1. Сигнальные пептиды, вовлеченные в секрецию ферментов;
2. N-терминал неизвестного функционального назначения;
3. Каталитический домен, содержащий сахарозосвязывающий и сахарозорасщепляющий домены;
4. С-терминальный домен, который контролирует размер полимера [36].

Механизм действия глюкансахаразы рассмотрен на примере декстрансахаразы: декстран синтезируется из сахарозы под действием фермента декстрансахаразы посредством гликозильных остатков. В синтез вовлечены два нуклеофила активного участка фермента, которые атакуют молекулу сахарозы, образуя два β -гликозильных остатка. При этом из дальнейшего процесса исключается фруктоза, а ее место занимает водород от С6-ОН. С6-ОН остаток одной из групп атакует С1 остаток другой группы, образуя α -1,6 связь. Освободившийся нуклеофил атакует другую молекулу сахарозы, образуя новый гликозил, который С6-ОН группой атакует С1 атом изомальтозной молекулы на растущей декстрановой цепи. Гликозильный и декстранозильные остатки попеременно перемещаются между двумя нуклеофилами в процессе удлинения декстрановой цепи. Удлинение цепи останавливается акцепторной реакцией [37].

Введение другого сахара вместо сахарозы (например, мальтозы) приводит к тому, что декстрансахараза начинает синтезировать олигосахариды. При этом гликозильный остаток переносится с синтеза декстрана на свободную гидроксильную группу этих сахаров, которые называют акцепторами, с образованием олигодекстранов. Многие сахара являются акцепторами, наиболее эффективными и хорошо изученными из них является мальтоза и изомальтоза. Акцептор взаимодействует с ферментом, ковалентно связанным с гликозиллом или декстранозилом с высвобождением глюкозы или декстрана от активного участка фермента, образуя ковалентную связь между глюкозой или декстраном и акцептором. Полимеризация завершается, когда акцептор замещает декстран с активного участка фермента. Большое число исследований направлено на возможность синтеза декстрана определенной длины посредством акцепторного механизма.

Образование ответвлений управляется действием второго каталитического домена в ферменте. Фермент, катализирующий декстраны с ответвлениями, содержит дополнительный домен, катализирующий α -1,2 связи [38].

Исследовалось образование декстрансахаразы шт. *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F на средах с различными источниками углерода. Установлено, что фермент образуется независимо от источников углерода с одинаковыми свойствами и размерами молекул. мРНК декстрансахаразы были идентичны для различных условий роста клеток. Предположительно, фермент синтезируется путем транскрипции одинаковых генов. Повышение выхода фермента на среде с сахарозой, возможно, вовле-

кает феномен активации в механизм экспрессии гена [39].

Другим ферментом, способным синтезировать декстран является декстран-декстраназа (EC2.4.1.2) - трансгликозидаза, конвертирующая мальтодекстрины в олигодекстран, продуцируемая штаммами *Gluconobacter oxydans*. Фермент катализирует трансфер α -1,4 связанного гликозила с молекулы донора на акцептор, формируя α -1,6 связь с образованием высокомолекулярного декстрана из мальтодекстринов [40].

Выводы

Растущая потребность в полисахаридах микробиологического происхождения требует развития новых способов и технологий производства. Это, в свою очередь, стимулирует углубление наших знаний в области не только синтеза полисахаридов, но и функционирования каждого элемента клетки. Развитие молекулярного моделирования позволяет создать уникальные конструкции, быстрая материализация которых, на наш взгляд, требует создания некоей клеточной «машины», сочетающей в себе различные компоненты клетки и искусственно созданные элементы.

Литература

1. Канарский А.В., Дулькин Д.А., Семенов Э.И., Чеботарь В.К., Щербаков А.В., Канарская З.А. Вестник Казан. технол. унив. Т. 15. № 14. с. 186 – 190. (2012).
2. Хусаинов И.А., Канарский А.В., Канарская З.А. Вестник Казан. технол. унив. Т. 16. № 6 (1). с. 131 – 137. (2013).
3. Aguilera J.M., Lillford J.P. Food Materials Science, Principles and Practice. Springer. (2008).
4. Elizabeth A., Baldwin, R. Hagenmaier, Bai J. Edible coatings and films to improve food quality. 460 с. (2011).
5. Freitas F., Alves V.D., Reis M.A. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. Trends Biotechnol. 29(8):388-98. (2011).
6. Aaron D. Baldwin, K.L. Kiick. Polysaccharide-Modified Synthetic Polymeric Biomaterials. Biopolymers. 94 (1): 128 – 140. (2010).
7. Rehm H.A. Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications Bernd Nature Reviews Microbiology published online. (2010).
8. Flemming, H.C., Neu, T.R., Wozniak, D.J. The EPS matrix: The “house of biofilm cells”. J. Bacteriol. 189, 7945 – 7947. (2007).
9. Flemming H.C., Wingender J. The biofilm matrix. Nat. Rev. Microbiol. 8. 623 – 633. (2010).
10. Decho A.W., Norman R.S., Visscher P.T. Quorum sensing in natural environments: Emerging views from microbial mats. Trends Microbiol. 18. 73 – 80. (2010).
11. Ian W. Sutherland. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. Microbiology. 147. 3 – 9. (2001).
12. Kokare C.R., Chacroborty S., Khopade A.N., Mohadik K.R. Biofilm Importants and applications. Indian Journal of Biotechnology. Vol. 8. pp 159 – 168. (2009).
13. Czaczyk K., Myszyk K. Biosynthesis of Extracellular Polymeric Substances (EPS) and Its Role in Microbial Biofilm Formation. Polish J. of Environ. Stud. Vol. 16. №. 6. 799 – 806. (2007).
14. Welman Alan D., Maddox Ian S. T Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges trends in Biotechnology . Vol. 21. № 6. (2003).
15. Bart Degeest, Frederik Vaningelgem, Luc De Vuyst. Microbial physiology, fermentation kinetics, and process engineering of heteropolysaccharide production by lactic acid bacteria. International Dairy Journal 11 747–757. (2001).
16. Seema Patel, Avishek Majumder, Arun Goyal Potentials of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. Indian J Microbiol. 52(1):3–12. (2012).
17. Vinderola G., Perdigon G., Duarte J., Farnworth E., Matar C. Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* on the gut mucosal immunity. Cytokine. 36 (5-6):254-60. (2006).
18. Liu CF., Tseng KC, Chiang SS, Lee BH, Hsu WH, Pan TM. Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus exopolysaccharides*. J Sci Food Agric.; 91(12):2284-91. (2011).
19. Maeda H., Zhu X, Omura K, Suzuki S, Kitamura S. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. Biofactors. 22(1-4):197-200. (2004).
20. Shimizu J, Wada M, Takita T, Innami S. Curdlan and gellan gum, bacterial gel-forming polysaccharides, exhibit different effects on lipid metabolism, cecal fermentation and fecal bile acid excretion in rats. 45 (3):251 - 62. (1999).
21. Sengul N, Aslim B, Ucar G. Effects of exopolysaccharide-producing probiotic strains on experimental colitis in rats. Dis Colon Rectum. 49(2): 250-8. (2006).
22. Russo P, Lopez P, Capozzi V, de Palencia PF, Duenas MT, Spano G, Fiocco D. Beta-glucans improve growth, viability and colonization of probiotic microorganisms.
23. Brink M, Todorov SD, Martin JH, Senekal M, Dics LM. The effect of prebiotics on production of antimicrobial compounds, resistance to growth at low pH and in the presence of bile, and adhesion of probiotic cells to intestinal mucus. J Appl Microbiol. 100 (4):813-20. (2006).
24. Sayem S.M., Manzo E., Ciavatta L., Tramice A., Cordone A., Zarfardino A., De Felice M., Varcamonti M. Antibiofilm activity of an exopolysaccharide from a sponge-associated strain of *Bacillus licheniformis*. Microb Cell Fact. 27;10:74. (2011).
25. Roos N.M., Katan M.B. Effects of probiotic bacteria on diarrhoea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. Am J Clin Nutr. 71:405–411. (2000).
26. Sabina Górska, Paweł Grycko, Jacek Rybka, Andrzej Gamian Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: structure and biosynthesis. (2013).
27. Rehm, B.H.A. Microbial production of biopolymers and polymer precursors: applications and perspectives. Caister Academic Press. 294 с. (2009)
28. Werning I L., Notararigo I S., Nöcher M., Fernández de Palencia P., Aznar R., Lypez I P. Biosynthesis, Purification and Biotechnological Use of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria Marha. www.intechopen.com
29. B. Pe´ant, G. LaPointe, C. Gilbert, D. Atlan, P. Ward and D. Roy Comparative analysis of the exopolysaccharide biosynthesis gene clusters from four strains of *Lactobacillus rhamnosus*. Microbiology. 151, pp. 1839 – 1851. (2005).
30. Ruffing A, Ruizhen Chen R Review Metabolic engineering of microbes for oligosaccharide and polysaccharide synthesis. Microbial Cell Factories. 5:25. (2006).
31. Rodriguez-Diaz J, Yebra MJ. Enhanced UDP-glucose and UDP-galactose by homologous overexpression of UDP-glucose pyrophosphorylase in *Lactobacillus casei*. Biotechnol Prog. 22(2):369-74. (2006).
32. Mao Z., Shin H.D., Chen R.R.. Engineering the E. coli UDP-glucose synthesis pathway for oligosaccharide synthesis.

33. *Faber E.J.* Modelling in aqueous solution of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus helveticus* 766. *Biopolymers*. 63. 66–76. (2002).
34. *Funane K., Ishii T., Matsushita M., Hori K., Mizuno K., Takahara H., Kitamura Y., Kobayashi M.* Water-soluble and water-insoluble glucans produced by *Escherichia coli* recombinant dextranases from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F. *Carbohydr Res*. 3. 334 (1):19-25. (2001).
35. *Sacha A. F. T. van Hijum.* Structure-Function Relationships of Glucanase and Fructanase Enzymes from Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 70. №. 1. p. 157–176. (2006).
36. *Korakli M., Vogel R.F.* Structure/function relationship of homopolysaccharide producing glycanases and therapeutic potential of their synthesized glycans. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 71. №. 6. pp. 790 – 803. (2006).
37. *Santos M., Teixeira J., Rodrigues A.* Production of dextranase, dextran and fructose from sucrose using *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512 (f), *Biochemical Engineering Journal*. 4. 177-188. (2000).
38. *Naessens M., Cerdobbel A., Soetaert W., Vandamme E.* Review *Leuconostoc* dextranase and dextran: production, properties and applications. *J Chem Technol Biotechnol*. 80:845–860. (2005).
39. *Quirasco M, Lopez-Munguia A, Remaud-Simeon M, Monsan P, Farres A.* Induction and transcription studies of the dextranase gene in *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F. *Appl Environ Microbiol*. 65 (12):5504-9. (1999).
40. *Naessens M., Cerdobbel A.* Dextran dextrinase and dextran of *Gluconobacter oxydans*. *Ind Microbiol Biotechnol*. 32: 323–334. (2005).

© **И. А. Хусанов** – асс. каф. пищевой инженерии малых предприятий КНИТУ, innzar@rambler.ru.