

综述



张金华, 山东省药学科学院高级工程师, 中国生物化学与分子生物学会工业分会副秘书长、理事。主要研究方向为多糖类药物开发。在微生物多糖高产菌株构建、相对分子质量可控发酵、绿色提取精制、质量研究及产业化方面取得系列成果。主持省级科技项目2项, 获授权发明专利15项, 获山东省科技进步二等奖1项, 获全国商业科技进步一等奖1项。

微生物胞外多糖的生物合成途径

张玥¹, 张超¹, 刁梦奇², 张岱州^{1,2}, 刘飞^{1,2*}, 张金华^{1,2*}

(¹山东中医药大学药学院, 济南 250355; ²山东省药学科学院, 济南 250101)

摘要: 微生物胞外多糖(exopoly saccharides, EPS)是一类在医药、食品、化妆品等领域具有重要应用价值的高分子聚合物。随着合成生物技术在多糖合成领域的应用, EPS生物合成途径的研究受到更多关注。本文以透明质酸、黄原胶、结冷胶等多糖为代表, 对目前EPS生物合成途径的研究进展进行了综述, 重点介绍了其合成途径、关键酶和基因, 并对EPS生物合成途径研究过程中存在的问题进行了讨论, 旨在为EPS的生物合成研究提供参考。

关键词: 微生物胞外多糖; 生物合成途径; 糖基转移酶

The biosynthetic pathways of microbial exopolysaccharides

ZHANG Yue¹, ZHANG Chao¹, DIAO Mengqi², ZHANG Daizhou^{1,2}, LIU Fei^{1,2*}, ZHANG Jinhua^{1,2*}

(¹College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

²Shandong Academy of Pharmaceutical Sciences, Ji'nan 250101, China)

Abstract: Microbial exopoly saccharides (EPS) are a class of high-molecular polymers with significant application value in the fields of medicine, food, cosmetics, et al. With the application of synthetic biology in the synthesis of EPS, research on their biosynthetic pathways has received increased attention. This paper provides a comprehensive review of the current research progress on the biosynthetic pathways of EPS, with a focus on representative examples such as hyaluronic acid, xanthan gum, and gellan gum. The review highlights the pathways, key enzymes, and genes involved in the biosynthesis of those EPS, and discusses the challenges of EPS biosynthetic pathways, aiming to provide valuable references for further studies on the biosynthesis of EPS.

收稿日期: 2024-05-30

基金项目: 济南市新高校20条资助项目(2021GXRC072); 山东省科技型中小企业创新能力提升工程项目(2022TSGC1006); 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2021ZDSYS07)

第一作者: E-mail: zhangyue010902@163.com

*通信作者: 张金华, E-mail: 15098978003@163.com; 刘飞, E-mail: lfshwu@163.com

Key Words: microbial exopolysaccharide; biosynthetic pathway; glycosyltransferase

多糖是由10个以上单糖通过糖苷键连接而成的高分子聚合物, 其生物合成过程是以UDP-葡萄糖(UDP-Glc)、UDP-葡萄糖醛酸(UDP-GlcA)、GDP-甘露糖(GDP-Man)等核苷酸糖供体为前体物质通过酶促反应连接形成长链化合物。根据来源不同, 多糖可以分为植物多糖、动物多糖和微生物多糖三大类。其中, 微生物多糖是一类由某些细菌和真菌(包括霉菌和酵母菌)等微生物在代谢过程中生成的大分子聚合物。根据在细胞中的存在位置, 可将多糖分为细胞内多糖、细胞外多糖和细胞壁多糖三类。细胞内多糖主要以肽聚糖和脂多糖为代表, 细胞壁多糖以O-抗原为主, 而细胞外多糖则以透明质酸(hyaluronic acid, HA)、结冷胶等为代表^[1,2]。其中, 细胞外多糖可进一步划分为荚膜多糖(capsular polysaccharide, CPS)和胞外多糖(exopoly saccharides, EPS)两类。CPS分泌至胞外后仍与细胞膜相连并黏附于细胞壁外形成荚膜。本文讨论的EPS特指由细胞内合成后分泌至胞外的自由多糖。

EPS具有丰富的结构多样性和广泛的生物活性, 在医疗健康、食品加工和化妆品等领域得到了广泛应用, 如HA可以作为化妆品中保湿抗皱的主要成分、细菌纤维素常作为皮肤创面敷料的材料、黄原胶作为食品添加剂、灵芝多糖与杜氏盐藻胞外多糖均可作为抗肿瘤的辅助药物、普鲁兰糖用于制备胶囊壳和药物载体等^[3-8]。目前, 以HA、黄原胶、结冷胶、凝结多糖等为代表的EPS已实现了产业化, 应用范围不断扩大, 特别是随着合成生物技术的发展, EPS的生物合成技术即将迎来新的跨越。因此, 对EPS生物合成途径的研究和合成机制的探索也越发引起众多研究者的广泛关注。进一步探究EPS的生物合成、结构特征及其与功能的关系, 对于降低多糖生产成本以及开发新型多糖材料具有重要意义。

EPS的生物合成是指在微生物代谢过程中, 以碳源为基础, 经过一系列酶促化学反应, 最终合成大分子聚合物的过程^[9]。这一过程通常涉及微生物细胞内多种酶催化的糖基转移反应, 这些反应

通常受到细胞内信号转导通路的调控, 并受到营养条件、环境因素等的影响。目前, HA、黄原胶、结冷胶等商业化多糖的生物合成机制已有较为清晰的解析。研究发现, 这些多糖的合成通常以核苷酸糖类化合物(如UDP-Glc、UDP-GlcA、GDP-Man等)为前体物质, 在相关酶的催化下逐步聚合而成^[9]。例如, HA的生物合成需要HA合成酶将UDP-Glc和UDP-GlcA转化为HA聚合物。但是, 一些其他EPS如普鲁兰糖、硬葡聚糖和凝结多糖等的生物合成机制仍需进一步研究, 未来针对这些多糖合成途径的深入探索将为EPS的开发利用提供更多理论支撑。本文旨在以HA、黄原胶、结冷胶等典型多糖为例, 总结其生物合成机制的研究进展, 为EPS的生物合成研究提供参考。

1 EPS生物合成途径的分类

EPS种类繁多, 其生物合成途径的研究对科学和技术发展具有极高的重要性。虽然种类和结构各不相同, 但EPS的合成却遵循相对一致的模式: 主要包括糖核苷酸前体合成、重复单元组装、多糖聚合及转运输出。参与这些反应的酶主要位于细胞膜和细胞壁上。根据重复单元翻转、聚合机制的不同, EPS合成途径主要分成以下两种: 合酶依赖途径(synthase-dependent pathway)和Wzx/Wzy依赖途径(Wzx/Wzy-dependent pathway)。在两种不同类型的胞外多糖合成途径中, 糖核苷酸前体的合成差异不大, 都经过单糖的磷酸化、磷酸基团变位、连接NDP等步骤合成。

合酶依赖途径中没有明显的重复单元组装步骤, 跨细胞膜的单一多糖合酶将胞内的糖核苷酸前体连接到糖链上的同时, 不断把延长的糖链分泌至胞外。糖链的长度(相对分子量)既与前体/合酶比例有关, 也与搅拌产生的剪切力及发酵液黏度有关。通常, 利用合酶依赖途径组装合成的多糖是只需要一种糖核苷酸前体的同多糖, 如凝结多糖等。此外, 含有D-葡萄糖醛酸和N-D-乙酰葡萄糖胺双糖重复单元的HA虽然需要UDP-GlcA和UDP-GlcNAc两种糖核苷酸前体, 但其聚合和分泌

是由单个HA合酶完成的,因此,HA合成也属于合酶依赖途径。

Wzx/Wzy依赖途径中有独立的重复单元组装过程,糖核苷酸前体中的糖基(一般是葡萄糖基)先连接到细胞内膜中的脂质载体上,再由多个糖基转移酶将前体中的糖基按照一定的顺序依次连接形成与脂质载体相连的寡糖重复单元。重复单元组装完毕后,经翻转酶(Wzx)作用穿过细胞内膜进入内外膜之间的周质空间,再通过聚合酶(Wzy)聚合成链多糖并通过外膜输出蛋白通道分泌至胞外。由Wzx/Wzy途径合成的多糖一般都含有多种单糖组分,属于杂多糖,如黄原胶、结冷胶等。

2 典型EPS的生物合成途径

为更好地利用这些多糖,对它们的生物合成途径的研究是必不可少的。本文接下来将主要介绍通过合酶依赖途径生成的HA、凝结多糖、普鲁兰糖、硬葡聚糖,通过Wzx/Wzy依赖途径生成的黄原胶、结冷胶,以及同时利用合酶依赖途径和Wzx/Wzy依赖途径生成的乳酸菌胞外多糖等微生物EPS的生物合成途径。本文通过对这几种典型EPS生物合成途径的介绍,以期为后续研究和应用提供有价值的参考和启示。

2.1 透明质酸

HA是一种由D-葡萄糖醛酸和N-D-乙酰葡萄糖胺通过 β -1,3-糖苷键和 β -1,4-糖苷键交替连接而成的高分子多糖,其分子式为 $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$ ^[10]。HA具有良好的水溶性,并呈现明显的双螺旋结构,其分子结构中的羟基排列形成一系列亲水区和疏水区,并赋予其独特的理化性质^[11]。根据相对分子质量的差异,HA可分为高相对分子质量HA和低相对分子质量HA两类。高相对分子质量HA具有良好的保湿性、黏弹性、润滑性、生物相容性等特性,主要用于关节腔注射、皮下填充及化妆品中;而低相对分子质量HA(相对分子质量低于 1×10^4)具有独特的生物学特性,与高相对分子质量HA相比其渗透性强,能更好地被皮肤吸收,虽然保湿性和黏弹性较弱,但具有延缓皮肤衰老、促进伤口愈合和抗肿瘤等多种生理活性^[12]。

HA的生物合成属于合酶依赖途径,由HA合酶将UDP-GlcA和UDP-GlcNAc中的糖基通过 β -1,3-糖

苷键和 β -1,4-糖苷键交替连接而成^[13]。最初,HA主要通过从牛眼玻璃体和鸡冠子中提取获得,该方法存在成本高、稳定性差等诸多缺点,因此逐渐被微生物发酵技术所取代。微生物发酵法能够生产出纯度更高、稳定性更好的HA。目前,HA通常由C类链球菌属细菌发酵产生,如马链球菌兽疫亚种和马链球菌等。HA合成所必需的两种前体物质是UDP-GlcA和UDP-GlcNAc(图1)。UDP-GlcA的合成过程涉及葡萄糖-6-磷酸、葡萄糖-1-磷酸和UDP-Glc的转化过程,由一系列酶催化完成,具体如下。葡萄糖首先由己糖激酶催化生成葡萄糖-6-磷酸,之后在 α -磷酸葡萄糖变位酶(phosphofructomutase, Pgm)的催化下形成葡萄糖-1-磷酸,然后在*hasC*基因编码的UDP-葡萄糖焦磷酸化酶(UDP-glucose pyrophosphorylase, Ugp)的作用下形成UDP-Glc,最终经过*hasB*基因编码的UDP-葡萄糖脱氢酶(UDP-glucose dehydrogenase, Ugd)的脱氢反应生成UDP-GlcA^[14]。UDP-GlcNAc合成分支起始于葡萄糖-6-磷酸在*hasE*基因编码的磷酸葡萄糖异构酶(phosphoglucose isomerase, Pgi)作用下生成果糖-6-磷酸,由果糖-6-磷酸依次经谷氨酰胺果糖-6-磷酸酰胺转移酶、磷酸葡萄糖胺变位酶和磷酸葡萄糖胺乙酰转移酶的催化作用生成UDP-GlcNAc^[15]。最后,在膜蛋白HA合酶的作用下,UDP-GlcA和UDP-GlcNAc交替连接生成HA并分泌至胞外。在HA生物合成过程中,*has*编码基因起到关键性作用,促使葡萄糖最终合成HA^[16]。此外,在微生物发酵过程中,菌种选择、培养基组成和发酵参数等因素也会影响HA的生物合成过程。考虑到链球菌在发酵过程中对培养基有严格要求,生产成本较高且是条件致病菌,研究人员正在探索使用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)^[14]、乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)^[15]、谷氨酸棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)^[13]等新型底盘细胞进行HA的高效合成。

2.2 凝结多糖

凝结多糖(Curdlan)又称热凝胶,是一种由400~500个葡萄糖残基通过 β -1,3-糖苷键连接而成的线性高分子聚合物,其分子式为 $(C_6H_{10}O_5)_n$,相对分子质量为 $5.3 \times 10^4 \sim 2 \times 10^6$,该多糖不存在支链结构,仅由一条长链组成^[17]。凝结多糖以无毒和

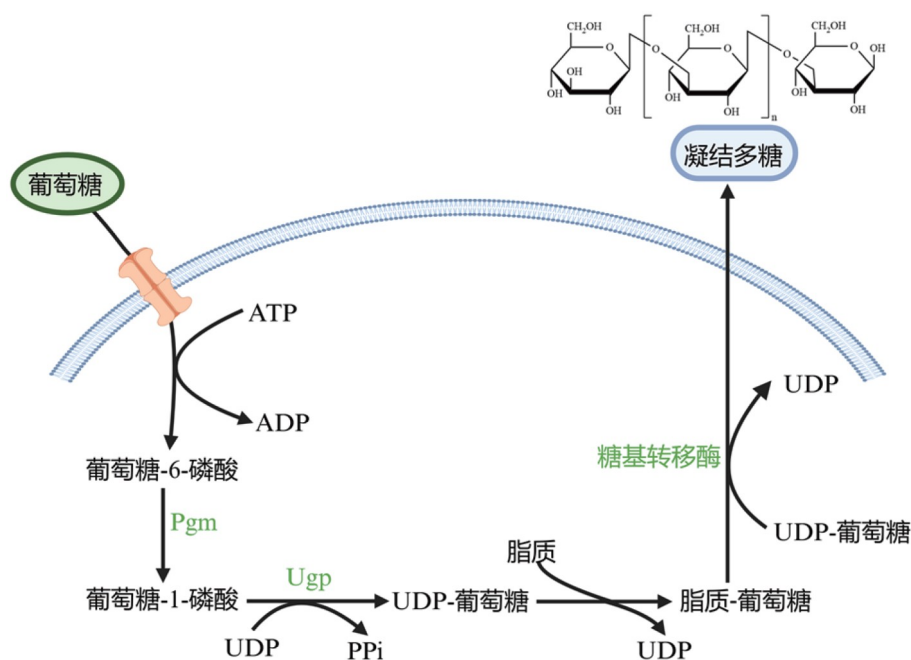


图2 凝结多糖的生物合成途径

(Glc)和糖苷键类型(α -1,4-糖苷键和 α -1,6-糖苷键),与直链淀粉不同的是普鲁兰糖是一种比较规律的直链多糖,大体可以看成是麦芽三糖通过 α -1,6-糖苷键连接而成。除麦芽三糖外,普鲁兰糖中也夹杂少量的麦芽四糖甚至麦芽五糖。前体UDP-Glc同样由Pgm和Ugp催化合成,之后可能会经历尚不明确的麦芽三糖/潘糖/异潘糖重复单元组装过程,最后由普鲁兰糖合酶聚合并分泌至胞外(图3)。直接

生成的普鲁兰糖具有很高的聚合度,使发酵液黏度变大,溶氧变差,菌体自身合成的 α -淀粉酶和普鲁兰酶可在发酵中后期对普鲁兰糖进行降解,以改善菌体的生长状况^[24]。目前已有研究揭示了多种酶和基因在普鲁兰糖生物合成中的作用,但关于其具体的合成部位、详细途径及机制的完整解释仍然有限,针对这些问题的解答将是未来研究的重要方向。

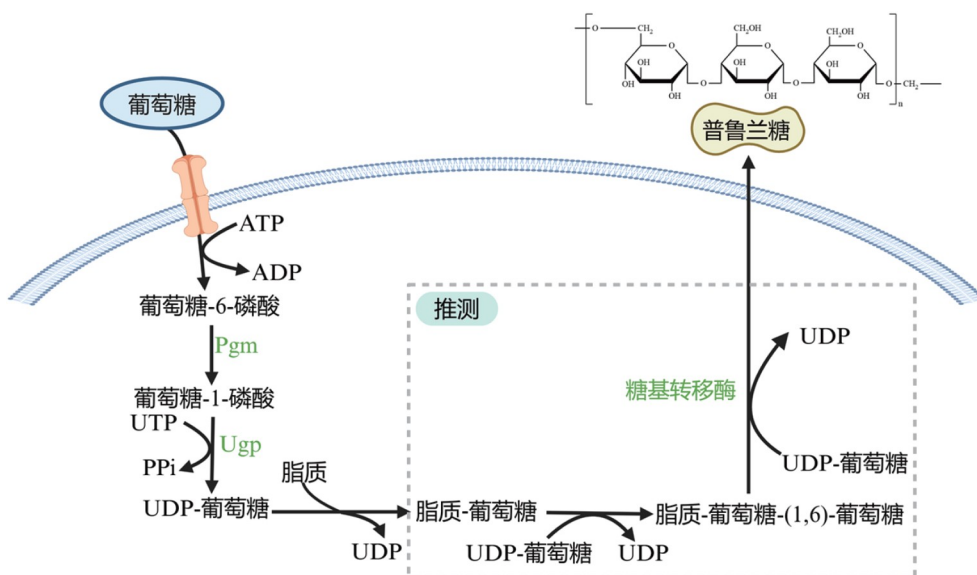


图3 推测的普鲁兰糖的生物合成途径

2.4 硬葡聚糖

硬葡聚糖(Scleroglucan polysaccharide)亦称小核菌葡聚糖,是一种中性多糖,相对分子质量为 $1.3 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$,主链为 β -1,3-葡聚糖,平均每3个主链糖基含有一个 β -1,6-葡萄糖分支^[25]。硬葡聚糖因 β -1,6-葡萄糖支链结构呈现出三螺旋构象,显著增强了其黏性特征^[26]。此外,硬葡聚糖还有良好的假塑性、热稳定性和溶解性。

硬葡聚糖是由齐整小核菌(*Sclerotium rolsii*)、裂褶菌(*Schizophyllum commune* Fr.)和灰霉菌(*Botrytis cinerea*)等真菌合成分泌的一种 β -葡聚糖,其合成过程属于合酶依赖途径。2011年, Schmid等^[27]根据常见的EPS合成途径对硬葡聚糖的生物合成进行了预测(图4),经Pgm和Ugp催化合成的UDP-Glc在 β -1,3-葡聚糖合酶的催化下,生成硬葡聚糖的主链 β -1,3-葡聚糖,最后在葡萄糖基转移酶或糖苷酶的作用下,将UDP-Glc上的葡萄糖基以 β -1,6-糖苷键连接到主链上,形成硬葡聚糖的支链。该合成途径目前只是推测,对主链和支链形成机制的研究仍然是一个开放的问题^[28]。此外,硬葡聚糖的生物合成过程可能与草酸的生物合成相关。在培养产生硬葡聚糖的真菌时,常观察到草酸作为副产物。研究草酸的生物合成过程可能有助于深入理解硬葡聚糖的合成途径^[28]。因此,进一步的研究不仅能够揭示这两种物质在多糖合成中的联系,还可能为硬葡聚糖的工业应用提供更

为坚实的科学基础。

2.5 黄原胶

黄原胶(Xanthan gum)亦称汉生胶,是由D-葡萄糖、D-甘露糖和D-葡萄糖醛酸按2:2:1的比例相互连接构成的一种酸性杂多糖,其中葡萄糖通过 β -1,4-糖苷键相连形成主链,甘露糖-葡萄糖醛酸-甘露糖侧链通过 β -1,3-糖苷键连接到主链,侧链上的2个甘露糖分别有乙酰基和丙酮酸修饰(图5)。黄原胶的侧链通过盘旋交互作用形成稳定的螺旋构型,这种结构赋予了其出色的耐酸、耐碱和耐高温特性^[29]。作为非牛顿流体,黄原胶表现出假塑性等流变特性,即黏度会随着剪切力的改变而改变^[30]。此外,黄原胶还可以与其他亲水性胶体发生复配,形成显著的胶体特性。例如,将黄原胶与魔芋胶按4:6比例复配可以增强复配胶的黏性和硬度,而按6:4的比例复配则能最大化复配胶的弹性^[31]。

黄原胶主要由黄单胞菌(*Xanthomonas*)发酵产生,其生物合成属于Wzx/Wzy依赖途径,前体物质包括UDP-Glc、GDP-Man和UDP-GlcA。Ielpi等^[32]详细阐明了野油菜黄单胞菌在发酵过程中生成黄原胶的具体合成途径(图5)。该途径可分为三个主要步骤:第一步是前体物质的合成。黄单胞杆菌可利用蔗糖、葡萄糖、木糖、果糖和乳糖等多种碳源实现前体物质的合成,其中果糖和乳糖因产量较低而较少使用^[33]。碳源首先被转运至细

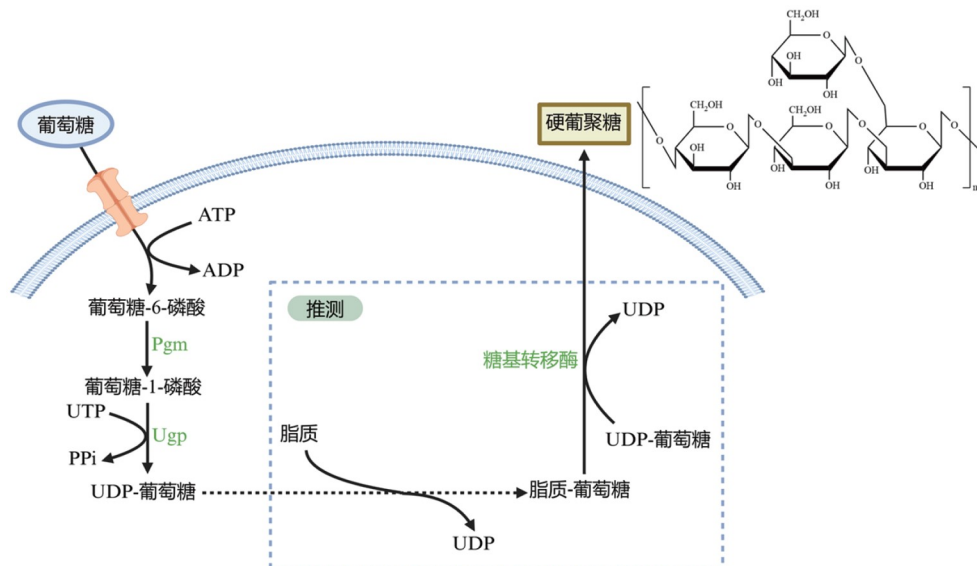


图4 推测的硬葡聚糖的生物合成途径

商业化领域更有价值^[39]。

结冷胶是由鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas sp.*)在有氧条件下发酵生成的, 其生物合成途径与黄原胶相似, 都是通过Wzx/Wzy依赖途径合成^[40]。如图6所示, 前体物质UDP-Glc和UDP-GlcA由葡萄糖-6-磷酸经Pgm、Ugp和Ugd催化合成, Pgm催化产物葡萄糖-1-磷酸经dTDP-葡萄糖焦磷酸化酶(RmlA)、dTDP-D-葡萄糖-4,6-脱水酶(RmlB)、dTDP-6-脱氧-D-葡萄糖异构酶(RmlC)和dTDP-6-脱氧鼠李糖脱氢酶(RmlD)催化合成dTDP-鼠李糖(dTDP-Rha)^[41]。四糖重复单元的组装和合成在嵌入细胞膜内膜的脂质载体上进行, 该过程可能由gelB、gelK、gelL和gelQ参与完成^[42]。其中, 已证实gelK编码的糖基转移酶催化GlcA通过 β -1,4-糖苷键连接到与脂质相连的Glc上, gelL和gelQ编码的糖基转移酶可能催化前体UDP-Glc和dTDP-Rha的组装, 但是具体的四糖重复单元组装机制尚不清晰^[43]。四糖重复单元在gelC、gelD、gelE、gelG和gelS编码酶的作用下, 经翻转、聚合、转运, 生成具有一定聚合度的结冷胶^[43]。结冷胶的生物合成途径与黄原胶类似, 均需要大量的酶和编码基因的参与, 但目前一些基因(如gelL、gelQ等基因)的作用还没有得到进一步证实。未来研究可以通过同源重组技术、构建cosmid文库等方法表达结冷胶基因簇, 以进一步探索和阐明其生物合成机制

制^[44]。

2.7 乳酸菌胞外多糖

乳酸菌是一类以碳水化合物为基质进行代谢、主要产物为乳酸的无芽孢革兰氏阳性细菌。乳酸菌由于安全性高, 已被广泛认定为“一般公认安全(GRAS)”的微生物, 常见的乳酸菌包括链球菌(*Streptococcus*)、乳杆菌(*Lactobacillus*)、肠球菌(*Enterococcus*)和乳球菌(*Lactococcus*)等^[45]。乳酸菌发酵产生的EPS可根据组成单体的种类分为均多糖(HoPS)和杂多糖(HePS), HoPS由单一类型的单体组成, 而HePS则由多种不同的单体构成^[46]。

乳酸菌胞外多糖HoPS和HePS的构成不同, 其生物合成途径也有很大差异。HoPS主要通过合酶依赖途径或胞外途径合成, HePS多依靠Wzx/Wzy依赖途径合成^[47]。乳酸菌合酶依赖途径HoPS的生物合成与前文所述HA、凝结多糖等相似, 糖核苷酸前体在糖基转移酶作用下完成糖链聚合和多糖分泌, 根据糖核苷酸前体和糖基转移酶种类的不同, 可以合成不同种类的HoPS。

由于乳酸菌大多没有完整高效的氧化呼吸链, 能量合成效率不如好氧微生物高, 合酶依赖途径并不是HoPS合成的主要途径, 不需要糖核苷酸前体合成。而以蔗糖、乳糖等双糖底物水解为能量来源的胞外途径更适合乳酸菌。相关的糖苷酶(如果糖酶、葡萄糖蔗糖酶)在水解双糖底物的过程

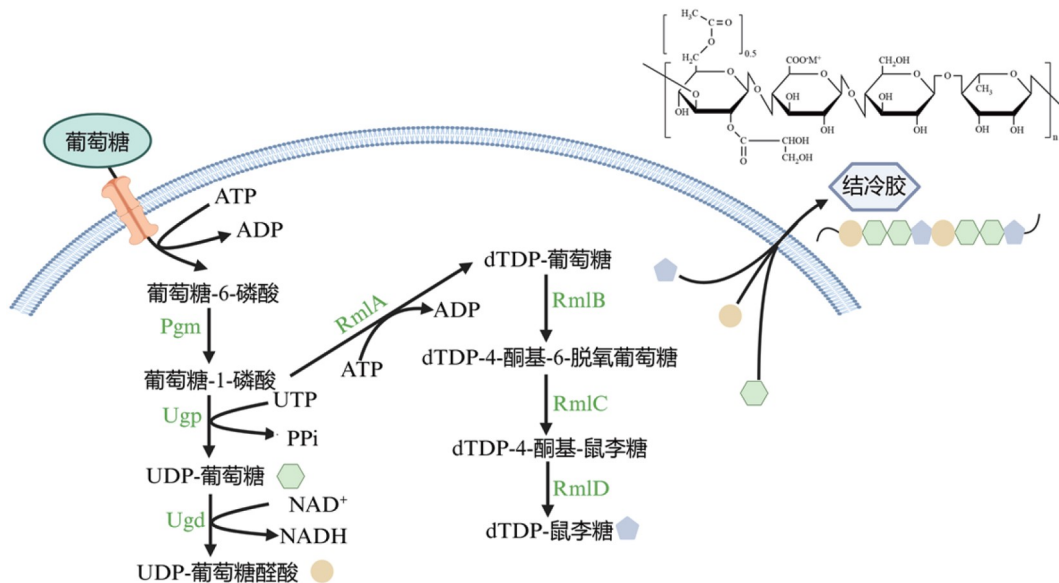


图6 结冷胶的生物合成途径

中,利用水解产生的能量将水解产物中的特定单糖转移至受体分子上,形成果聚糖、葡聚糖、半乳聚糖等均多糖长链,该过程不需要脂质载体参与,可在胞外进行(图7)^[48]。

相较之下,HePS的生物合成途径更为复杂,主要依靠Wzx、Wzy等关键酶完成,经过与黄原胶、结冷胶等胞外多糖合成途径相似的单糖磷酸化、糖核苷酸前体合成、重复单元合成、Wzx翻转、Wzy聚合、胞外输送等步骤,在不同种属的乳酸菌中合成具有不同结构的HePS(图7)^[49]。乳酸菌除了能合成胞外多糖以外,还可以通过ABC转运体依赖途径合成荚膜多糖。

2.8 其他

右旋糖苷在特定微生物的发酵作用下,以蔗糖为碳源,通过 α -1,6、 α -1,3、 α -1,2和 α -1,4-糖苷键连接,被催化合成复杂的长链结构^[50]。威兰胶的生物合成主要由鞘氨醇单胞菌在发酵过程中通过Wzx/Wzy依赖途径完成^[51]。除此之外,还有大量EPS尚未阐明生物合成途径,如细菌纤维素、酵母多糖、黑木耳多糖、环状糊精、猴头菇多糖和灵芝多糖等,这些多糖的生物合成机制仍需要进一步深入的研究。当前研究的局限性和未来研究的

方向在于揭示这些复杂生物合成过程的详细分子机制和调控网络,这对于深入理解其生物功能及其在生物技术和医药领域的潜在应用具有重要的科学和实际意义。

3 总结与展望

EPS的生物合成途径基本归结于利用碳源合成前体物质,通过糖苷键将所需的各种前体物质连接成长链结构,并通过聚合和修饰,最终将其分泌到细胞外。在合成过程中,常用到变位酶、脱氢酶、异构酶、转移酶等酶类。这些酶在参与反应过程中具有特异性识别能力,如Pgm只能催化葡萄糖-6-磷酸转变成葡萄糖-1-磷酸,不能用于甘露糖的转化,而将甘露糖-6-磷酸转变成甘露糖-1-磷酸需要Pmm参与才可以实现。值得注意的是,微生物的培养条件会显著影响多糖的产量和结构,控制发酵温度、底物浓度和pH等因素对多糖合成至关重要。在探索未知EPS的合成途径时,研究者通常采用已知的多糖生物合成途径作为参考,逐步通过实验优化和探索,以揭示特定多糖的合成路径。目前只有少部分以HA、乳酸菌胞外多糖、黄原胶等为代表的胞外多糖的生物合成途径得到

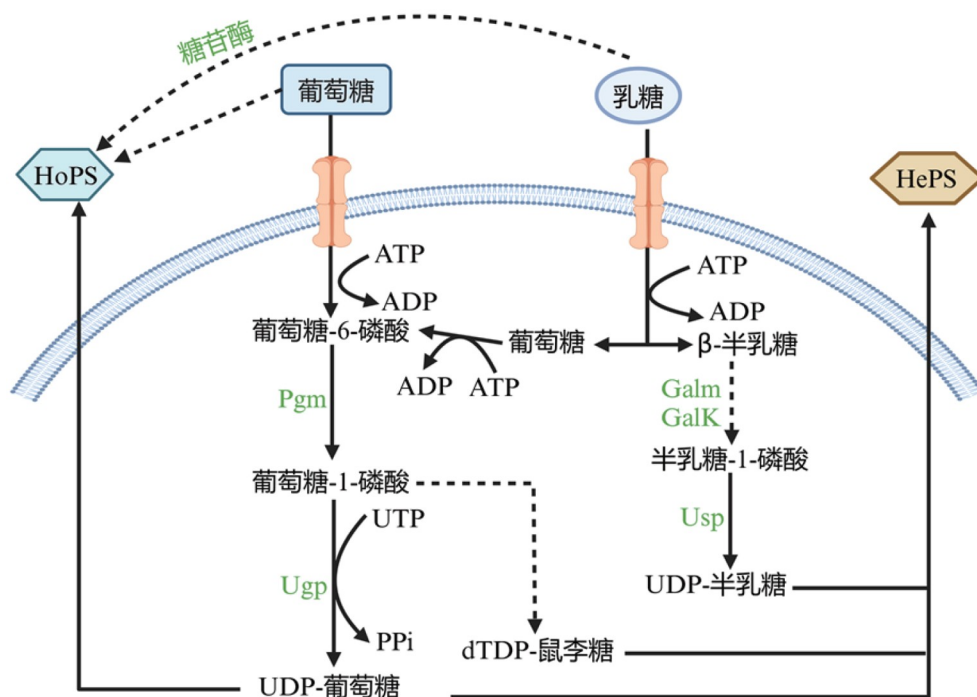


图7 乳酸菌胞外多糖HoPS和HePS的生物合成途径

了实验证实, 普鲁兰糖、硬葡聚糖等多糖的合成途径解析仍局限于前体物质的生成阶段, 多糖主链与支链的具体形成机制以及聚合、转运的具体机制等关键问题尚未明确, 仍处于假设和探索阶段。

随着测序技术和合成生物技术的快速发展, EPS的合成途径研究也迎来了高速发展期。阐明EPS的生物合成途径、建立多糖合成酶元件库、借助合成生物技术对现有途径进行工程化改造是未来的重要发展方向, 不仅能提高多糖的生物合成效率, 还能通过途径改造改变原有多糖的结构和特性, 获得具有新功能的新型多糖。此外, 动植物多糖的微生物合成也有望成为合成生物领域的重点方向, 有助于扩展多糖在食品工业、医药开发、农业生产以及化妆品制备等多个领域的应用。未来, 随着研究的深入和技术的发展, 微生物胞外多糖有望成为这些领域的关键组分, 展现出更加广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Servais C, Vassen V, Verhaeghe A, et al. Lipopolysaccharide biosynthesis and traffic in the envelope of the pathogen *Brucella abortus*. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 911
- [2] Tang Z, Cai S, Liu Y, et al. A lipopolysaccharide O-antigen synthesis gene in *Mesorhizobium huakuii* plays differentiated roles in root nodule symbiotic compatibility with *Astragalus sinicus*. *Mol Plant Microbe Interact*, 2023, 36(10): 623-635
- [3] Han W, Chen C, Yang K, et al. Hyaluronic acid and chitosan-based injectable and self-healing hydrogel with inherent antibacterial and antioxidant bioactivities. *Int J Biol Macromol*, 2023, 227: 373-383
- [4] Hsu CY, Lin SC, Wu YH, et al. The antimicrobial effects of bacterial cellulose produced by *komagataeibacter intermedius* in promoting wound healing in diabetic mice. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(10): 5456
- [5] Nsengiyumva EM, Alexandridis P. Xanthan gum in aqueous solutions: fundamentals and applications. *Int J Biol Macromol*, 2022, 216: 583-604
- [6] 钟闰, 吴思伟, 何秀苗, 等. 杜氏盐藻胞外多糖抗肿瘤活性及其机制研究. *食品工业科技*, 2020, 41(22): 126-133
- [7] Xia QH, Lu CT, Tong MQ, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharides enhance the abscopal effect of photothermal therapy in hepatoma-bearing mice through immunomodulatory, anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-angiogenic. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 648708
- [8] Le NMN, Le-Vinh B, Friedl JD, et al. Polyaminated pullulan, a new biodegradable and cationic pullulan derivative for mucosal drug delivery. *Carbohydrate Polym*, 2022, 282: 119143
- [9] 任野宝, 邹根, 张赫男, 等. 微生物多糖合成关键基因挖掘的研究进展. *微生物学通报*, 2021, 48(6): 2131-2142
- [10] Gurpilhares DB, Cinelli LP, Simas NK, et al. Marine prebiotics: polysaccharides and oligosaccharides obtained by using microbial enzymes. *Food Chem*, 2019, 280: 175-186
- [11] 徐彦芹, 刘敏, 余丹梅. 透明质酸的改性及在生物医用材料领域的应用研究. *化学通报*, 2023, 86(2): 142-152
- [12] Qiu Y, Ma Y, Huang Y, et al. Current advances in the biosynthesis of hyaluronic acid with variable molecular weights. *Carbohydrate Polym*, 2021, 269: 118320
- [13] Cheng F, Yu H, Stephanopoulos G. Engineering *Corynebacterium glutamicum* for high-titer biosynthesis of hyaluronic acid. *Metab Eng*, 2019, 55: 276-289
- [14] Westbrook AW, Ren X, Oh J, et al. Metabolic engineering to enhance heterologous production of hyaluronic acid in *Bacillus subtilis*. *Metab Eng*, 2018, 47: 401-413
- [15] Jeeva P, Shanmuga Doss S, Sundaram V, et al. Production of controlled molecular weight hyaluronic acid by glucostat strategy using recombinant *Lactococcus lactis* cultures. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(11): 4363-4375
- [16] Yao ZY, Qin J, Gong JS, et al. Versatile strategies for bioproduction of hyaluronic acid driven by synthetic biology. *Carbohydrate Polym*, 2021, 264: 118015
- [17] Yuan M, Fu G, Sun Y, et al. Biosynthesis and applications of curdlan. *Carbohydrate Polym*, 2021, 273: 118597
- [18] Zhang R, Edgar KJ. Properties, chemistry, and applications of the bioactive polysaccharide curdlan. *Biomacromolecules*, 2014, 15(4): 1079-1096
- [19] Gao M, Liu Z, Zhao Z, et al. Exopolysaccharide synthesis repressor genes (*exoR* and *exoX*) related to curdlan biosynthesis by *Agrobacterium sp.* *Int J Biol Macromol*, 2022, 205: 193-202
- [20] Kai A, Ishino T, Arashida T, et al. Biosynthesis of curdlan from culture media containing ^{13}C -labeled glucose as the carbon source. *Carbohydrate Res*, 1993, 240: 153-159
- [21] Singh RS, Kaur N, Singh D, et al. Pullulan in pharmaceutical and cosmeceutical formulations: a review. *Int J Biol Macromol*, 2023, 231: 123353
- [22] 张攀, 张伊凡, 成刚刚, 等. 基于代谢组学分析 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 K_2HPO_4 协同对普鲁兰多糖生物合成的影响. *食品科技*, 2021, 46(4): 1-8
- [23] Duan X, Chi Z, Wang L, et al. Influence of different

- sugars on pullulan production and activities of α -phosphoglucose mutase, UDPG-pyrophosphorylase and glucosyltransferase involved in pullulan synthesis in *Aureobasidium pullulans* Y68. *Carbohydrate Polym*, 2008, 73(4): 587-593
- [24] Liu F, Zhang J, Zhang L, et al. Correlation between the synthesis of pullulan and melanin in *Aureobasidium pullulans*. *Int J Biol Macromol*, 2021, 177: 252-260
- [25] Bai T, Wang T, Li Y, et al. Optimization of scleroglucan production by *Sclerotium rolfssii* by lowering pH during fermentation via oxalate metabolic pathway manipulation using CRISPR/Cas9. *Fungal Biol Biotechnol*, 2021, 8(1): 1
- [26] Song J, Jia YX, Su Y, et al. Initial Analysis on the characteristics and synthesis of exopolysaccharides from *sclerotium rolfssii* with different sugars as carbon sources. *Polymers*, 2020, 12(2): 348
- [27] Schmid J, Meyer V, Sieber V. Scleroglucan: biosynthesis, production and application of a versatile hydrocolloid. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 91(4): 937-947
- [28] Schmid J, Müller-Hagen D, Bekel T, et al. Transcriptome sequencing and comparative transcriptome analysis of the scleroglucan producer *Sclerotium rolfssii*. *BMC Genomics*, 2010, 11(1): 329
- [29] Said M, Haq B, Al Shehri D, et al. Modification of xanthan gum for a high-temperature and high-salinity reservoir. *Polymers*, 2021, 13(23): 4212
- [30] 戴传富, 王璐, 苟敏, 等. 黄原胶生物合成及分子调控. 中国生物工程杂志, 2022, 42(Z1): 46-57
- [31] 王莹. 魔芋胶与黄原胶复配对鸡胸肉糜品质的影响. 现代食品, 2021(17): 196-199
- [32] Ielpi L, Couso RO, Dankert MA. Sequential assembly and polymerization of the polyprenol-linked pentasaccharide repeating unit of the xanthan polysaccharide in *Xanthomonas campestris*. *J Bacteriol*, 1993, 175(9): 2490-2500
- [33] Mohsin A, Akyliyaevna KA, Zaman WQ, et al. Kinetically modelled approach of xanthan production using different carbon sources: a study on molecular weight and rheological properties of xanthan. *Int J Biol Macromol*, 2021, 193: 1226-1236
- [34] Wei CL, Lin NT, Weng SF, et al. The gene encoding UDP-glucose pyrophosphorylase is required for the synthesis of xanthan gum in *xanthomonas campestris*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 226(3): 607-612
- [35] 邱嘉辉, 曹雪强, 宋凯, 等. 改造群体感应机制和菌黄素代谢途径生物合成“白原胶”. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(Z1): 2118-2126
- [36] Becker A, Katzen F, Pühler A, et al. Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1998, 50(2): 145-152
- [37] Do MH, Lee HHL, Lee JE, et al. Gellan gum prevents non-alcoholic fatty liver disease by modulating the gut microbiota and metabolites. *Food Chem*, 2023, 400: 134038
- [38] Petric Z, Ružić J, Žuntar I. The controversies of parabens—an overview nowadays. *Acta Pharm*, 2021, 71(1): 17-32
- [39] Palumbo FS, Federico S, Pitarresi G, et al. Gellan gum-based delivery systems of therapeutic agents and cells. *Carbohydrate Polym*, 2020, 229: 115430
- [40] Dev MJ, Warke RG, Warke GM, et al. Advances in fermentative production, purification, characterization and applications of gellan gum. *Bioresource Tech*, 2022, 359: 127498
- [41] Silva E, Marques AR, Fialho AM, et al. Proteins encoded by *Sphingomonas elodea* ATCC 31461 *rmlA* and *ugpG* genes, involved in gellan gum biosynthesis, exhibit both dTDP- and UDP-glucose pyrophosphorylase activities. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(8): 4703-4712
- [42] Prajapati VD, Jani GK, Zala BS, et al. An insight into the emerging exopolysaccharide gellan gum as a novel polymer. *Carbohydrate Polym*, 2013, 93(2): 670-678
- [43] 郑丽圆, 李宛莹, 喻林兵, 等. 少动鞘氨醇单胞菌合成结冷胶研究进展. 食品与发酵工业, 2024, 50(3): 298-303
- [44] Zhang Y, Buchholz F, Muylers JPP, et al. A new logic for DNA engineering using recombination in *Escherichia coli*. *Nat Genet*, 1998, 20(2): 123-128
- [45] 王烁, 姜静, 杜仁鹏, 等. 乳酸菌胞外多糖的生物合成、特性和应用. 生物技术, 2022, 32(3): 394-401
- [46] Rana S, Upadhyay LSB. Microbial exopolysaccharides: synthesis pathways, types and their commercial applications. *Int J Biol Macromol*, 2020, 157: 577-583
- [47] Zhou Y, Cui Y, Qu X. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: structure, bioactivity and associations: a review. *Carbohydrate Polym*, 2019, 207: 317-332
- [48] 石金铭, 陈秋羽, 刘昭曦, 等. 乳杆菌胞外多糖合成基因簇及构效关系. 微生物学报, 2023, 63(9): 3482-3499
- [49] Cuthbertson L, Mainprize IL, Naismith JH, et al. Pivotal roles of the outer membrane polysaccharide export and polysaccharide copolymerase protein families in export of extracellular polysaccharides in gram-negative bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2009, 73(1): 155-177
- [50] 孙云德. 右旋糖酐概述. 医药工业, 1983(2): 42-44
- [51] 刘辉, 韦璐璐, 朱龙发, 等. 鞘氨醇单胞菌的研究进展. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2738-2752