

乳酸菌胞外多糖的结构、生物合成及其应用

丹彤, 王俊国, 张和平*

(内蒙古农业大学 乳品生物技术与工程教育部重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要: 胞外多糖(EPS)是微生物在生长代谢过程中分泌到细胞壁外常渗于培养基的一类糖类化合物。这些高分子糖类聚合物因具有独特的流变学特性和分子结构, 可作为增稠剂、乳化剂和稳定剂等食品和非食品工业中发挥重要作用。一些乳酸菌胞外多糖还具有促进免疫、降低胆固醇和抗肿瘤等特性。本文综述了乳酸菌胞外多糖的化学结构、生物合成机制及其在食品中的应用。

关键词: 乳酸菌; 胞外多糖; EPS基因簇; 生物合成; 遗传调控

Structure, Biosynthesis and Application of Exopolysaccharides by Lactic Acid Bacteria

DAN Tong, WANG Jun-guo, ZHANG He-ping*

(Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

Abstract: Exopolysaccharides (EPS) are secreted outside cell wall of producing microorganism. Because of unique rheological properties and molecular structure, these polymers are widely used in foods as a stabilizer, thickener and emulsifier. In this article, chemical structure, biosynthesis and application of exopolysaccharide produced in bacteria have been reviewed, and new advances in exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria (LAB) were discussed. Moreover, the results provide a new theoretical basis for increasing exopolysaccharide production of LAB.

Key words: lactic acid bacteria; exopolysaccharide; EPS gene cluster; biosynthesis; genetic engineering

中图分类号: Q291

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)07-0335-05

微生物胞外多糖(exopolysaccharide, EPS)是微生物在生长代谢过程中分泌到细胞壁外常渗于培养基的一类糖类化合物^[1]。根据胞外多糖所在位置, 可分为荚膜多糖(capsular polysaccharide, CPS)和黏液性多糖(slime polysaccharide)^[2]。荚膜多糖是指附着在细菌表面的多糖, 黏液性多糖是指菌体分泌到培养基中的多糖^[3]。胞外多糖生产菌在固体培养基上生长的菌落具有很强的黏性, 用牙签挑起能拽出很长的菌丝, 在生物学上常常采用这种方法鉴定胞外多糖生产菌。当胞外多糖生产菌株在液体培养基中培养时, 向周围的培养基中分泌的胞外多糖能使培养基的黏度增加, 其中, 也有个别产量高的菌株分泌的胞外多糖能使液体培养基像凝胶一样呈现半凝固状态。在自然环境中, 胞外多糖生产菌随处可见。当胞外多糖生产菌在有生命或无生命物体表面增殖时, 在这些物体的表面能观察到生物膜(biofilm, BF)^[4]。生物膜经常出现于我们的日常生活中, 如: 在发酵生产、水回用系统、冷却系统以及废水处理的排水管上形成的黏

性物质、以及在牙齿的表面形成牙菌斑等^[5]。在胞外多糖生产菌中研究较多的有乳酸菌, 乳酸菌及其生产的胞外多糖不仅具有保健功能, 还可以作为天然的食品添加剂, 赋予产品良好的质地、口感和风味。近年来, 乳酸菌及其生产的胞外多糖因具有独特的流变特性和良好的功能特性, 受到国内外很多学者的关注。本文主要综述乳酸菌胞外多糖的化学结构、生物合成机制及其应用, 其中, 重点介绍乳酸菌异型胞外多糖的生物合成及其在基因调控方面取得的成绩。

1 乳酸菌胞外多糖的化学结构

胞外多糖从化学结构上可分为同型胞外多糖和异型胞外多糖两种。同型胞外多糖由一种类型的单糖构成, 而异型胞外多糖则由两种以上不同单糖构成的重复单位组成^[6]。以下详细介绍同型胞外多糖和异型胞外多糖的化学结构。

收稿日期: 2012-03-07

基金项目: 内蒙古自然科学基金开放课题(20102010); 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目

作者简介: 丹彤(1971—), 女, 助理研究员, 博士, 研究方向为乳品生物技术。E-mail: dantong813218@yahoo.cn

*通信作者: 张和平(1965—), 男, 教授, 博士, 研究方向为乳品加工和乳品生物技术。E-mail: hepingdd@vip.sina.com

同型胞外多糖分为 α -D-葡聚糖、 β -D-葡聚糖、果聚糖、半乳聚糖等4种类型^[7]。 α -D-葡聚糖的代表例有右旋糖酐(dextran)和普鲁兰(pullulan); β -D-葡聚糖的代表例有可得然胶(curdlan)和硬葡聚糖(scleroglucan); 果聚糖的代表例有果聚糖(levan)^[7-9]。这些微生物多糖在配糖键、分枝类型、多聚体链长以及高级结构等方面都有明显差异。在乳酸菌同型胞外多糖中较为著名的有右旋糖酐, 右旋糖酐的主链由 α -D-Glcp(1 $\rightarrow$ 6)、 α -D-Glcp(1 $\rightarrow$ 3)连接而成。这种特殊的化学结构赋予右旋糖酐独特的物理特性, 能改善产品的流变学特性, 增加产品的黏性和稳定性, 在食品、医药等诸多领域中发挥重要作用。

一般来说, 乳酸菌异性胞外多糖主链骨架是由D-葡萄糖、D-半乳糖、L-鼠李糖等单糖构成的重复单位连接而成^[10]。自Doco等^[11]报道了嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)胞外多糖的结构以来, 已知化学结构的乳酸菌胞外多糖超过50种, 其中, 具有独特结构的多糖有34种。与同型胞外多糖比, 异型胞外多糖重复单位的主链及其支链的结构具有多样性, 少数异型胞外多糖重复单位中含有N-乙酰葡糖胺(GlcNAc)、N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)和葡萄糖醛酸等取代基, 有时还发现含有磷酸基、乙酰基和甘油等非糖残基的胞外多糖。在已报道的胞外多糖中, *S. thermophilus* Sc136和*S. thermophilus* SFi20异型胞外多糖的重复单位中含有N-乙酰基^[12]。*S. thermophilus* MR-1C的重复单位中含有L-果糖残基, 该多糖的主链由半乳糖、鼠李糖残基构成, 在鼠李糖残基上分别链接两个半乳糖残基和一个L-果糖残基, 是迄今为止报道的胞外多糖中构成重复单位单糖数最多的多糖^[12]。

乳酸菌生产的胞外多糖种类繁多, 它们的化学结构也存在明显差异。一般来说, β -1,4结合键链接的胞外多糖比 β -1,3键或 β -1,2键链接的胞外多糖具有更强的黏性^[13], 由 α 结合键链接的胞外多糖比 β 结合键链接的胞外多糖具有更强的弹性^[13]。如乳酸乳球菌NIZO B40(*Lactococcus lactis* NIZO B40)胞外多糖主链骨架全部由 β -1,4键构成, 与主链骨架全部由 α 结合键构成的*Lc. lactis* B891相比, 具有更强的刚性结构和比容^[13]。

2 乳酸菌胞外多糖的生物合成机制

细菌胞外多糖的生物合成是由胞外多糖基因簇调控。这些基因簇长度一般约为10~20kb的基因序列, 含多个基因, 分别控制着胞外多糖的合成、聚合以及向细胞外的输出^[14]。和同型胞外多糖的合成机制相比, 异型胞外多糖的合成机制比较复杂, 以下分两部分详细介绍了同型胞外多糖和异型胞外多糖的生物合成机制。

2.1 乳酸菌同型胞外多糖的生物合成

同型胞外多糖是以蔗糖为基质, 在高特异性糖基

转移酶的催化作用下, 在细胞外合成的多糖^[15]。同型胞外多糖的代表例有右旋糖酐, 它的生物合成途径受到广泛关注。右旋糖酐的主要生产菌株为肠膜明串珠菌(*Leuconostoc, mesenteroides* subsp. *mesenteroides*或*Leuconostoc, mesenteroides* subsp. *dextranicum*), 这些菌株以蔗糖为基质, 在糖基转移酶(glucansucrase)的催化作用下, 在细胞表面或细胞外合成(图1)。

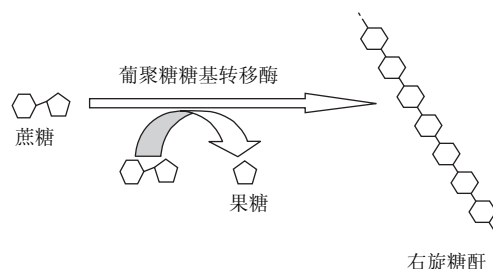


图1 右旋糖酐的生物合成

Fig.1 Biosynthesis of homopolysaccharide dextran

2.2 乳酸菌异型胞外多糖的生物合成

多糖是天然生物大分子物质, 几乎存在于所有有机体中。乳酸菌异型胞外多糖的生物合成过程比较复杂, 与细胞壁的构成成分肽聚糖、脂多糖的合成过程相似。这些碳水化合物在构成成分、细胞膜上的合成机制以及向细胞膜外的输送等方面具有一定的相似性^[10]。以*Lc. lactis* NIZO B40异型胞外多糖的生物合成途径为例, 详细介绍乳酸菌异型胞外多糖糖核苷酸的生物合成、重复单位的合成、聚合以及向细胞外的输出过程。

2.2.1 糖核苷酸的生物合成

Lc. lactis NIZO B40胞外多糖的主链骨架由UDP-葡萄糖和UDP-半乳糖构成, 侧链上有鼠李糖和磷酸半乳糖残基^[16]。这些糖核苷酸是由葡萄糖-1-磷酸、果糖-6-磷酸和半乳糖-1-磷酸等前驱体合成, 糖核苷酸的合成路径受培养基中碳源种类的影响^[16]。当葡萄糖进入细胞后, 经糖酵解途径生成丙酮酸, 在糖酵解过程中生成的葡萄糖-6-磷酸在葡萄糖磷酸变位酶(phosphoglucumutase, PGM)的催化作用下转化为葡萄糖-1-磷酸, 然后, 在UDP-葡萄糖焦磷酸化酶(UDP-glucose pyrophosphorylase)的催化作用下生成UDP-葡萄糖(图2)。在*Lc. lactis* NIZO B40菌株中存在2种PGM酶(α -PGM、 β -PGM)^[16]。 α -PGM能催化葡萄糖-6-磷酸生成葡萄糖-1-磷酸, β -PGM催化 β -葡萄糖-1-磷酸生成 β -葡萄糖-6-磷酸^[16]。与葡萄糖代谢途径相比, 果糖的代谢途径比较复杂, 当果糖被摄取到细胞内后, 首先经由PEP-fructose PTS途径生成果糖-1-磷酸, 然后在相关酶的催化下生成果糖-1,6-二磷酸、果糖-6-磷酸和葡萄糖-6-磷酸、最后生成葡萄糖-1-磷酸^[16]。

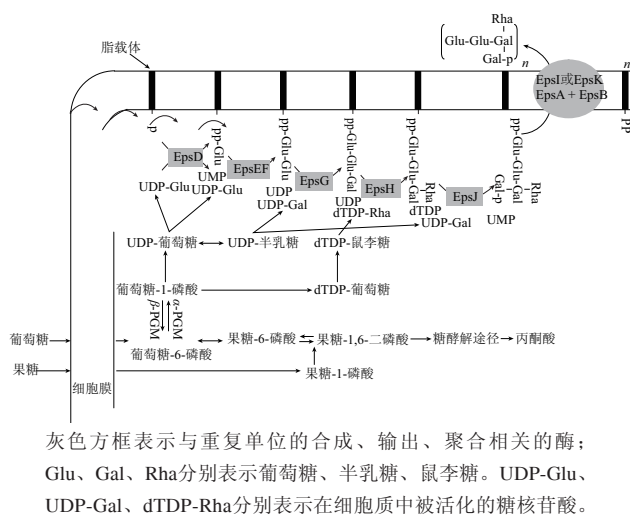


图2 *Lc. lactis* NIZO B40菌株胞外多糖的生物合成途径^[16]

Fig.2 Schematic representation of pathways involved in NIZO B40 EPS biosynthesis^[16]

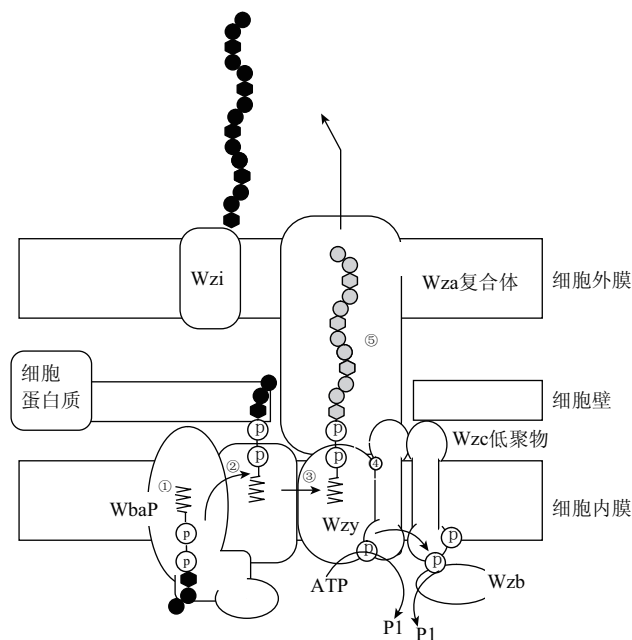
2.2.2 重复单位的合成

重复单位的合成是在糖基转移酶(glycosyltransferase)的催化作用下将糖核苷酸顺序性转移到异戊二烯醇磷酸酯(脂载体)上形成的^[10]。在重复单位的合成过程中,糖基转移酶和脂载体起重要作用。糖基转移酶负责将糖核苷酸转运到脂载体以及和脂载体相连的糖核苷酸上,脂载体位于细胞膜上,具有糖核苷酸最初受体功能^[10]。在胞外多糖基因簇中一般含有多个糖基转移酶,其中,负责将糖核苷酸转运到脂载体上的糖基转移酶被称为引导糖基转移酶(priming glycosyltransferase)^[17]。在*Lc. lactis* NIZO B40 胞外多糖重复单位的合成过程中,引导糖基转移酶(EpsD)将UDP-葡萄糖转运到脂载体上,然后第2、3糖基转移酶EpsE、EpsF共同作用将UDP-葡萄糖转运到和脂载体相连的糖基上,EpsG将UDP-半乳糖转运到和脂载体相连的第2糖基上,这些糖核苷酸被转运到和脂载体相连的糖核苷酸上,构成胞外多糖的主链。构成侧链的dTDP-鼠李糖、磷酸化半乳糖分别被EpsH、EpsJ转运到构成主链骨架的半乳糖残基上。在NIZO B40胞外多糖的合成过程中,可能有6种糖基转移酶参与胞外多糖重复单位的构建。

2.2.3 重复单位的聚合以及细胞外输出

革兰氏阳性菌胞外多糖重复单位的聚合、链长的决定、以及细胞外的输送过程非常复杂,目前还没有关于这些方面的研究报道。与革兰氏阳性菌相比,革兰氏阴性菌由于细胞结构相对简单,国内外很多学者对革兰氏阴性菌重复单位的聚合、链长的决定以及向菌体外的输出等代谢途径做了详细的研究。Whitfield等^[18]报道了大肠杆菌(*Escherichia coli* group 1 capsule K30)胞外多糖的生物合成过程(图3)。在*E. coli* group 1 capsule (K30)胞外多糖的合成过程中,脂载体和与其结合的重复单位在翻

转酶(flippase)的作用下通过细胞内膜向细胞外膜输出,在输出过程中重复单位在相关酶的作用下发生聚合,最后通过在外膜中的蛋白质通道,在细胞表面形成荚膜多糖。很多学者认为,革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的胞外多糖生物合成过程有高度的相似性。近年来,在革兰氏阳性菌中陆续发现一些和已知的胞外多糖蛋白质具有一定同源性的蛋白质。Lamoth等^[19]在保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Lfi5)中发现了具有翻转酶功能的蛋白质。de Vuyst等^[10]报道了位于*Lc. lactis* NIZO B40胞外多糖基因簇上游的*epsA*、*epsB*的基因序列和根瘤菌(*Rhizobium meliloti*)的*exoP*的基因序列有很高的相似性,*exoP*是调控多糖链长的蛋白质,说明*Lc. lactis* NIZO B40的*EpsA*和*EpsB*可能和调控胞外多糖的链长有关。*Lc. lactis* NIZO B40的*EpsK*和沙门氏菌属(*Salmonella*)的转位酶的氨基酸序列有很高的同源性,而*EpsI*和志贺氏菌属(*Shigella*)聚合酶的氨基酸序列也具有同源性,说明该菌株的*EpsK*和*EpsI*可能和重复单位的聚合与输出有关。



①.和内膜细胞质表面脂载体相结合的胞外多糖重复单位;②.和脂载体结合的胞外多糖重复单位在Wzx的催化作用下通过内膜;③.重复单位在Wzy的催化作用下聚合;④.重复单位在Wzb的催化作用下高度聚合;⑤.聚合体经由外膜复合体向细胞外输出。

图3 *E. coli* Group 1 capsule (K30)的胞外多糖输出途径^[18]

Fig.3 Model of *E. coli* Group 1 capsule (K30) polysaccharide biosynthesis^[18]

2.2.4 调控乳酸菌胞外多糖生产的基因簇

关于革兰氏阴性菌胞外多糖基因簇的研究早在20年前就已开始,而关于革兰氏阳性菌胞外多糖基因簇的研究开始的比较晚。最早关于革兰氏阳性菌胞外多糖基因簇的报道是Stingele等^[20]发现的*S. thermophilus* Sfi6

胞外多糖基因簇, 该基因簇由13个基因构成, 所有的基因由位于*epsA*上游的启动子转录。近年来, 已报道的乳酸菌胞外多糖基因簇有*S. thermophilus* NCFB2393、*S. thermophilus* Sfi39、*S. thermophilus* NST2280、*S. thermophilus* Sc136、*L. helveticus* NCC2745、*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Lfi5以及*Lc. lactis* NIZO B40等。这些乳酸菌胞外多糖基因簇在结构上有很高的相似性, 即由调控、决定多糖的链长、重复单位合成以及聚合与输出等4个领域构成(图4)^[14]。在这些基因簇中, 有时也有例外的情况出现。如, *L. helveticus* NCC2745的胞外多糖基因簇由12个基因构成, 分别为*epsEFGHIJKLMNO*。在这个基因簇中, 没有发现调控基因*epsA*, 而在胞外多糖基因簇的上游发现了和胞外多糖基因簇反方向的插入序列IS(图4)。

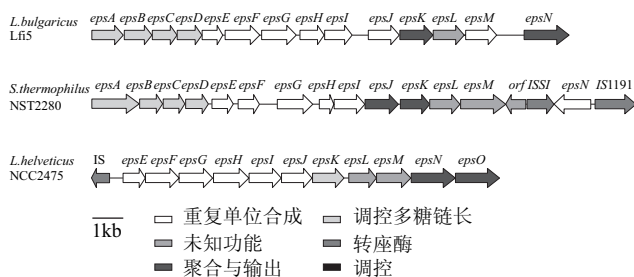


图4 乳酸菌胞外多糖基因簇的结构及功能

Fig.4 Genetic organization and functions of LAB gene cluster

2.2.5 乳酸菌胞外多糖的遗传工学

一些乳酸菌生产的异型胞外多糖具有促进免疫, 降低胆固醇, 抗肿瘤等益生功能^[21], 可以作为保健食品广泛用于食品工业中。乳酸菌生产的异型胞外多糖还具有独特的流变特性, 可作为天然的食品添加剂如增稠剂、乳化剂和稳定剂等应用在乳制品生产中。乳酸菌异型胞外多糖虽然具有这些有益的特性和功能, 但乳酸菌异型胞外多糖的低产量及其不稳定的特性, 制约着乳酸菌异型胞外多糖在食品工业和非食品工业中的应用和发展。为了提高胞外多糖的产量并改善其功能特性, 国内外很多学者在菌株的改良以及培养条件的优化等方面做了大量的研究工作。

van Kranenburg等^[22]报道了当*Lc. lactis* NIZO B40的起始糖基转移酶EpsD发生突变时, 该菌株失去了生产胞外多糖的能力, 证明了该酶是调控胞外多糖生产的关键酶。为了增加胞外多糖的产量, 有些学者建议将胞外多糖基因簇克隆到高拷贝的质粒中, 通过提高质粒的拷贝数达到提高胞外多糖的产量的目的。Laws等^[23]报道了为提高胞外多糖产量而构建的高拷贝数质粒*Lc. lactis* EPS pNZ4120。在这项研究中首先将位于*Lc. lactis* pNZ4000质粒上的胞外多糖基因簇克隆到高拷贝数质粒pIL253中, 构建了含有完整胞外多糖基因簇的高拷贝数质粒

pNZ4120。该质粒在合适的宿主菌中能被有效表达, 只是该质粒还存在适用宿主菌范围窄等缺点, 因此有必要构建宿主菌适用范围更广的质粒。Stingele等^[24]将*S. thermophilus* Sfi6的控制多糖生产的基因簇克隆到胞外多糖非生产菌(*Lc. lactis* MG1363)中, 结果该基因簇在*Lc. lactis* MG1363中表达, 从而证明了该基因簇能调控胞外多糖的生产。通过这项研究, 作者等还发现*Lc. lactis* MG1363生产的胞外多糖重复单位的成分发生了改变, 半乳糖残基被*N*-乙酰半乳糖胺残基取代。因此, 可以推测Sfi6菌株的半乳糖转移酶和聚合酶具有非特异性, 半乳糖转移酶在胞外多糖非生产菌中能转运*N*-乙酰半乳糖胺残基, 聚合酶也能将含有*N*-乙酰半乳糖胺残基的重复单位聚合生成胞外多糖。可见, 胞外多糖生产菌株很难生产具有特定结构的胞外多糖。

3 乳酸菌胞外多糖的应用

胞外多糖因具有独特流变特性, 可作为凝胶剂、稳定剂、增稠剂等, 在食品和非食品工业中被广泛应用。在微生物多糖中, 著名的有黄原胶(xanthan gum)、结冷胶(gellan)、右旋糖酐、普鲁兰、可得然胶等。黄原胶是由野生黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)生产的微生物胞外多糖, 具有优良的性能, 广泛应用于食品、石油及医药等行业, 是目前世界上生产规模最大的微生物多糖。右旋糖酐是最早被开发应用的乳酸菌同型胞外多糖, 是美国食品药品监督管理局(FDA)首次批准的可应用于食品的微生物胞外多糖, 广泛应用于食品、制药业中。

与上述的微生物多糖和乳酸菌同型胞外多糖相比, 乳酸菌异型胞外多糖的产量一般很低, 只有这些微生物多糖产量1/10~1/1000, 极大阻碍了乳酸菌在乳制品生产中的应用。欧美一些国家禁止在发酵乳中使用稳定剂等食品添加剂, 因此, 在一些国家和地区生产发酵乳时, 一般直接使用生产胞外多糖的乳酸菌作为发酵剂, 这些黏性菌株在发酵乳中生产的胞外多糖能够影响发酵乳的品质, 增加产品的稳定性。在传统酸乳发酵过程中, 一般使用的发酵剂主要有*S. thermophilus*和*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, 因此, 筛选能生产胞外多糖的*S. thermophilus*和*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*在酸乳制造业中具有非常重要意义。

克非尔(Kefir)是发源于高加索地区的传统发酵乳制品。在生产克非尔时, 常常使用克非尔粒作为发酵剂。克非尔粒中含有大量益生菌, 目前已发现的有乳酸菌、酵母菌和醋细菌等^[25]。克非尔粒中25%的干质量是由乳酸菌生产的胞外多糖构成, 克非尔及其成分具有多种生物活性, 对人体有抑制血压的上升、降低血清胆固醇、缓解便秘等多种作用^[26]。Uchida等^[25]从克非尔中分离出

黏性菌株马乳酒乳杆菌(*Lactobacillus kefiranofaciens*), 该菌株生产的异型胞外多糖是由等物质的量比的葡萄糖和半乳糖构成, 并具有很高的生物活性。

乳酸菌生产的胞外多糖因具有良好的持水性, 在低脂肪和无脂肪奶酪的生产中具有潜在的应用价值。在生产奶酪时使用黏性乳酸菌作为发酵剂, 能增加奶酪的湿度, 提高奶酪的产量^[27]。目前, 在奶酪生产中使用的乳酸菌有*S. thermophilus*、*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*、以及*Lc. lactis*等^[28-29]。和微生物多糖不同, 乳酸菌胞外多糖的产量较低, 在食品工业和非食品工业的应用范围比较窄, 是制约这些胞外多糖开发和应用的“瓶颈”因素。随着乳酸菌胞外多糖研究的深入, 期待这些乳酸菌及其生产的胞外多糖能够更广泛的应用在食品工业和非食品工业中。

4 结 语

人类在很久以前就把乳酸菌应用于酸奶、奶酪等发酵食品的生产上, 是公认的食品安全级微生物(generally recognized as safe, GRAS)^[30-31]。这些来自食品的乳酸菌生产的胞外多糖由于对机体无毒副作用、来源安全可靠等优点, 受到人们的广泛关注。关于乳酸菌胞外多糖的研究开始于20世纪90年代, 至21世纪初期, 已取得了飞速的发展。但乳酸菌胞外多糖的生物合成途径和调控机制十分复杂, 有关乳酸菌胞外多糖的合成机理尚不完整。随着乳酸菌及其胞外多糖研究的深入, 期待分离出更多具有优良特性的菌株, 同时, 利用基因工程技术改造现有菌株, 构建出具有特定结构和高产量胞外多糖的理想菌株, 加快乳酸菌及其生产的胞外多糖在食品工业和非食品工业中的应用。

参考文献:

- [1] LIU S B, QIAO L P, HE H L, et al. Optimization of fermentation conditions and rheological properties of exopolysaccharide produced by deep-sea bacterium *Zunongwangia profunda* SM-A87[J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): 1-11.
- [2] BAZAKA K, CRAWFORD R J, NAZARENKO E L, et al. Bacterial extracellular polysaccharides[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2011, 715: 213-226.
- [3] KANG H, CHOI H S, KIM J E, et al. Exopolysaccharide-overproducing *Lactobacillus paracasei* KB28 induces cytokines in mouse peritoneal macrophages via modulation of NF- κ B and MAPKs[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2011, 21: 1174-1178.
- [4] SADAL I, HONG W Z, SWORDS W E, et al. Characterization and comparison of biofilm development by pathogenic and commensal isolates of *Histophilus somni*[J]. *J Bacteriol*, 2007, 189: 8179-8185.
- [5] 干霞芳, 李蒙英. 生物膜和生物膜形成菌的研究[J]. 安徽大学学报: 自然科学版, 2007(6): 91-94.
- [6] HASSAN A N. ADSA Foundation Scholar Award: possibilities and challenges of exopolysaccharide-producing lactic cultures in dairy foods[J]. *J Dairy Sci*, 2008, 91(4): 1282-1298.
- [7] MALIK A, RADJI M, KRALJ S, et al. Screening of lactic acid bacteria from Indonesia reveals glucanase and fructanase genes in two different *Weissella confusa* strains from soya[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2009, 300: 131-138.
- [8] BADEL S, BERNARDI T, MICHAUD P. New perspectives for lactobacilli exopolysaccharides[J]. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(1): 54-66.
- [9] van HIJUM S A, KRALJ S, OZIMEK L K, et al. Structure-function relationships of glucanase and fructanase enzymes from lactic acid bacteria[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006, 70: 157-176.
- [10] de VUYST L, DEGEEST B. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 1999, 23: 153-177.
- [11] DOCO T, WIERUSZESKI J M, FOURNET B, et al. Structure of an exocellular polysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus*[J]. *Carbohydr Res*, 1990, 198: 313-321.
- [12] LOW D, AHLGREN J A, HORNE D, et al. Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C capsular exopolysaccharide in cheese moisture retention[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64: 2147-2151.
- [13] KLEEREBEZEM M, van KRANENBURG R. Exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis*: from genetic engineering to improved rheological properties?[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1999, 76(1/4): 357-365.
- [14] DAN T, FUKUDA K, SUGAI-BANNAI M, et al. Characterization and expression analysis of the exopolysaccharide gene cluster in *Lactobacillus fermentum* TDS030603[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2009, 73(12): 2656-2664.
- [15] SCHWAB C, WALTER J, TANNOCK G W, et al. Sucrose utilization and impact of sucrose on glycosyltransferase expression in *Lactobacillus reuteri*[J]. *Syst Appl Microbiol*, 2007, 30(6): 433-443.
- [16] RUAS-MADIEDO P, HUGENHOLTZ J, ZOON P. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria[J]. *Int Dairy J*, 2002, 12: 163-171.
- [17] LEBEER S, VERHOEVEN T L, FRANCIUS G, et al. Identification of a gene cluster for the biosynthesis of a long, galactose-rich exopolysaccharide in *Lactobacillus rhamnosus* GG and functional analysis of the priming glycosyltransferase[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(11): 3554-3563.
- [18] WHITFIELD C, PAIMENT A. Biosynthesis and assembly of group 1 capsular polysaccharide in *Escherichia coli* and related extracellular polysaccharides in other bacteria[J]. *Carbohydr Res*, 2003, 338: 2491-2502.
- [19] LAMOTHE G T, JOLLY L, MOLLET B, et al. Genetic and biochemical characterization of exopolysaccharide biosynthesis by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*[J]. *Arch Microbiol*, 2002, 178: 218-228.
- [20] STINGELE F, NEESER J R, MOLLET B. Identification and characterization of the eps (exopolysaccharide) gene cluster from *Streptococcus thermophilus* Sf6[J]. *J Bacteriol*, 1996, 178: 1680-1690.
- [21] 孟利, 张兰威. 西藏灵菇胞外多糖组分对小鼠免疫调节作用及机制的研究[J]. 微生物学报, 2009, 49(12): 1660-1664.
- [22] van KRANENBURG R, MARUGG J D, van SWAM I I, et al. Molecular characterization of the plasmid-encoded eps gene cluster essential for exopolysaccharide biosynthesis in *Lactococcus lactis*[J]. *Mol Microbiol*, 1997, 24: 387-397.
- [23] LAWS A, GU Y, MARSHALL V. Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria[J]. *Biotechnol Adv*, 2001, 19: 597-625.
- [24] STINGELE F, VINCENT S J F, FABER E J, et al. Introduction of the exopolysaccharide gene cluster from *Streptococcus thermophilus* Sf6 into *Lactococcus lactis* MG1363: production and characterization of an altered polysaccharide[J]. *Mol Microbiol*, 1999, 32: 1287-1295.
- [25] UCHIDA M, ISH II I, INOUE C, et al. Kefiran reduces atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2010, 17(9): 980-988.
- [26] CHEN Y P, HSIAO P J, HONG W S, et al. *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Dairy Sci*, 2012, 95(1): 63-74.
- [27] HASSAN A N, AWAD S, MISTRY V V. Reduced fat process cheese made from young reduced fat Cheddar cheese manufactured with exopolysaccharide-producing cultures[J]. *J Dairy Sci*, 2007, 90(8): 3604-3612.
- [28] COSTA N E, HANNON J A, GUINEE T P, et al. Effect of exopolysaccharide produced by isogenic strains of *Lactococcus lactis* on half-fat Cheddar cheese[J]. *J Dairy Sci*, 2010, 93(8): 3469-3486.
- [29] BLAIOTTA G, SORRENTINO A, OTTOMBRINO A, et al. Short communication: technological and genotypic comparison between *Streptococcus macedonicus* and *Streptococcus thermophilus* strains coming from the same dairy environment[J]. *J Dairy Sci*, 2011, 94(12): 5871-5877.
- [30] TAYUANL C, TANNOCK G W, RODTONG S. Growth and exopolysaccharide production by *Weissella* sp. from low-cost substitutes for sucrose[J]. *Afr J Microbiol Res*, 2011, 5(22): 3693-3701.
- [31] MEDINA M, VINTINI E, VILLENA J, et al. *Lactococcus lactis* as an adjuvant and delivery vehicle of antigens against pneumococcal respiratory infections[J]. *Bioeng Bugs*, 2010, 1(5): 313-325.