

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ СПОСОБНОСТИ *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* К СИНТЕЗУ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ

Якубенко О.Б., Боднарчук О.В., Петров Ф.И., Насырова Г.Ф.

*Институт продовольственных ресурсов НААН Украины,  
ipranalit@ukr.net*

В последние годы среди микробиологов и биотехнологов развился повышенный интерес к исследованию способности молочнокислой микрофлоры к синтезу экзополисахаридов (ЭПС). Данный класс соединений способен улучшать вязкость и текстуру различных молочных продуктов, таких как йогурт, сыры и других. Наличие ЭПС, благодаря высокой водосвязывающей способности, не допускает синерезиса, способствуют уменьшению количества выделяющейся сыворотки во время производства, что также увеличивает сроки годности молочных продуктов. Заквашивание культурами бактерий, способных синтезировать ЭПС, позволяет заменить использование химически модифицированного крахмала и других стабилизационных систем, широко используемых в последнее время при производстве молочных продуктов. Кроме этого, ЭПС, синтезируемые микроорганизмами, имеют способность к расщеплению мочевины в молочном сыре, улучшая его технологические характеристики [1].

В данном контексте особенно активно исследуют способность к синтезу ЭПС бактериями рода *Streptococcus*. Отдельные штаммы *Streptococcus thermophilus* способны продуцировать ЭПС в количестве 1000 мг/л) при ферментации молока. Добавление таких штаммов в заквасочные культуры модифицировало текстуру ферментативных молочных продуктов [2, 7].

Исследование 44 штаммов *S. thermophilus* установило генетический полиморфизм среди них и позволило установить 21 различный генотип, чем подчеркнуло высокую степень изменчивости в пределах вида [5], что совпадает и с другими исследованиями [4]. Также, сравнение между генетическими и фенотипическими/биотехнологическими данными позволило установить важные совпадения, которые могли бы быть полезным при выборе штаммов при производстве молочных продуктов. Было показано, что штаммы, способные к синтезу ЭПС, также обладали другими важными биотехнологическими свойствами: являлись уреазо-позитивными штаммами, то есть способными к ферментативному гидролизу мочевины в молоке, а также были способны к расщеплению галактозы [5].

Анализ генома штамма ST 1275 позволил установить новый кластер генов *eps* для синтеза ЭПС – гены *eps1C-eps1D* и *eps2C-eps2D* комплексно регулируют синтез повторяющихся блоков ЭПС и уровень сахаров-прекурсоров для их синтеза, что является двумя основными факторами,

влияющими на уровень продуктивности штаммов [6]. Также, была установлена способность данного штамма к синтезу двух типов ЭПС – капсульных и свободных, разной молекулярной массы.

Это дает возможность разработать специфические для штамма молекулярные маркеры, которые могли бы идентифицировать штаммы с необходимыми биотехнологическими свойствами. Например, гены, ответственные за синтез ЭПС у *Streptococcus thermophilus* Sfi39 были выявлены на геномном фрагменте, размером 20 п.н. Было показано, что два гена, *epsE* и *epsG*, участвует в синтезе ЭПС, поскольку их исключение приводит к потере фенотипа (табл.1) [3]. Генный кластер *eps* был клонирован и перенесен в не-ЭПС-продуцирующий штамм *Lactococcus lactis* MG1363. Было установлено, что синтезированный ЭПС был идентичным ЭПС, синтезированному *S. thermophilus* Sfi39 с помощью химического анализа и ЯМР-спектроскопии.

**Таблица 1** – Пример используемых праймеров для идентификации способности *S. thermophilus* к синтезу экзополисахаридов

Последовательность	Ген	Позиция
TTATTATGGAGGTGAAC	<i>epsB</i>	f 3614
ССААТСАСТГСААГГАА	<i>epsC</i>	r 4713
TCTCACTCGCTATCAAA	<i>orf14.9</i>	r 19967
AACACATGTTGGTAATG	<i>deoD</i>	f 1
AGTACCATTAACAGTAG	<i>epsG</i>	r 11341
AATATCTGCAGACTCGTTTTACG	<i>epsE</i>	r 6704
TCAATAGTCGACCCTGATTTTCAGGTG	<i>epsE</i>	f 5942
TCAATAGTCGACTGATGACTACG	<i>epsG</i>	f 10968
AATATCTGCAGTCCAAACATTCAG	<i>epsG</i>	r 11645

Примечание: f – прямой праймер, r – обратный.

Фундаментальное понимание генетики и синтеза ЭПС у *S. thermophilus* и других стрептококков значительно выросло в последние годы. Были описаны десятки основных повторяющихся структурных единиц, определены организация и функции многочисленных генов *eps*, а молекулярная основа для структурно-функциональных взаимосвязей ЭПС в пищевых системах продолжает исследоваться [2].

Сравнение последовательности и функциональности в исследованиях этих генов и генных кластеров позволяют сформировать понимание эволюции, физиологической роли и биологии синтеза ЭПС *S. thermophilus* и других молочнокислых бактерий. В индустрии производства молочных продуктов данные знания в конечном счете способны обеспечить генную инженерию новых ЭПС с заданными и уникальными свойствами для улучшения технологических и потребительских свойств молочной продукции. Функциональные и сравнительные генетические исследования, необходимые для достижения этих успехов будут способствовать внедрению единой системы

номенклатуры генов *eps* в молочнокислой микрофлоре. Достижение этой цели возможно принятие системы номенклатуры генов синтеза полисахаридов, где гомологичным генам идентифицируются одинаково безотносительно видовых или штаммовых различий.

## Литература

1. Рожкова Т. В. Биотехнология стартовых культур на основе молочнокислых бактерий, синтезирующих полисахариды. Автореф. дис. на соиск. уч. степ. к. т. наук. Москва. 2006. 28 с.
2. Broadbent J. R., McMahon, D. J., Welker, D. L., Oberg, C. J., Moineau, S. Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review //Journal of dairy science. 2003. Т. 86. №. 2. С. 407-423.
3. Germond J. E., Delley, M., D'amico, N., Vincent, S. J. Heterologous expression and characterization of the exopolysaccharide from *Streptococcus thermophilus* Sfi39 //European Journal of Biochemistry. 2001. Т. 268. №. 19. С. 5149-5156.
4. Giraffa, G., Paris, A., Valcavi, L., Gatti, M., Neviani, E. Genotypic and phenotypic heterogeneity of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products //Journal of applied microbiology. 2001. Т. 91. №. 5. С. 937-943.
5. Mora, D., Fortina, M. G., Parini, C., Ricci, G., Gatti, M., Giraffa, G., Manachini, P. L. Genetic diversity and technological properties of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products //Journal of applied microbiology. 2002. Т. 93. №. 2. С. 278-287.
6. Purwandari, U., Shah, N. P., Vasiljevic, T. Effects of exopolysaccharide-producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt //International Dairy Journal. 2007. Т. 17. №. 11. С. 1344-1352.
7. Wu, Q., Tun, H. M., Leung, F. C. C., Shah, N. P. Genomic insights into high exopolysaccharide-producing dairy starter bacterium *Streptococcus thermophilus* ASCC 1275 //Scientific reports. 2014. Т. 4. С. 4974.