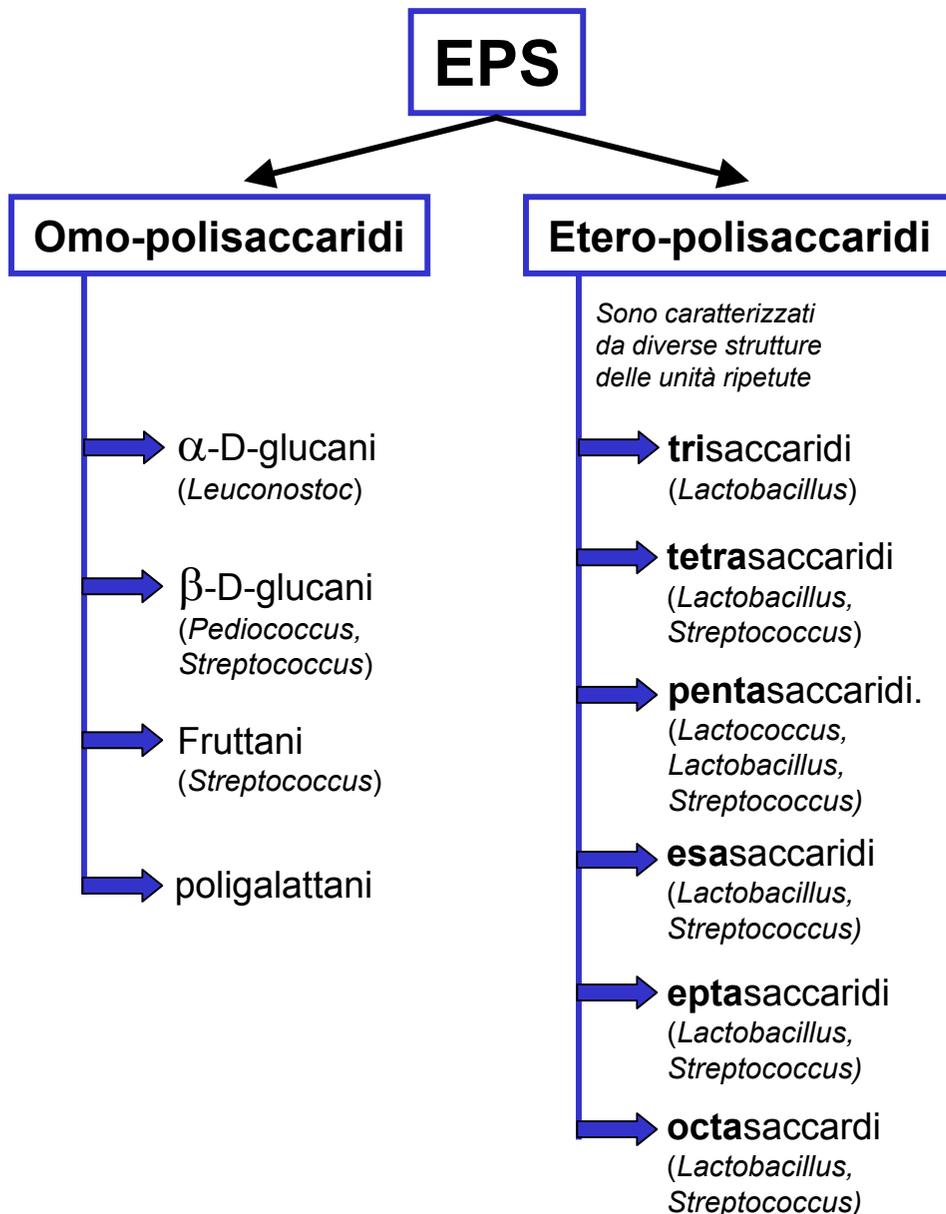
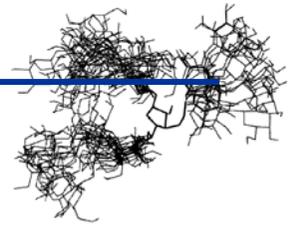


## Esopolisaccardi (EPS) da batteri lattici

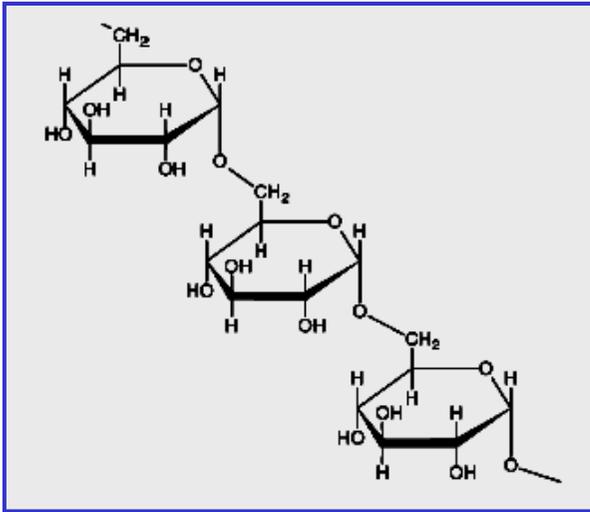
I polimeri a lunga catena e di elevato peso molecolare che disciolti o dispersi in acqua determinano un aumento della viscosità o la formazione di un gel sono fondamentale importanza nell'industria alimentare. Questi polimeri alimentari sono inoltre caratterizzati da importanti effetti secondari quali: potere emulsionante, stabilizzante, di controllo della cristallizzazione, inibizione della sinerisi, sospensione di particolato etc. La maggior parte dei polimeri alimentari utilizzati sono polisaccaridi di origine vegetale (amido, pectine, gomma arabica, carragenani e alginati) che spesso necessitano di modifiche chimiche per migliorare le loro prestazioni funzionali nell'alimento. In Europa l'impiego di queste molecole è strettamente regolamentato e l'eventuale loro aggiunta nell'alimento deve essere dichiarata in etichetta. L'alternativa all'impiego di polisaccaridi vegetali modificati risiede nell'impiego di EPS di natura batterica ed in particolare prodotti da batteri generalmente ritenuti innocui (GRAS - generally recognized as safe) come i batteri lattici.



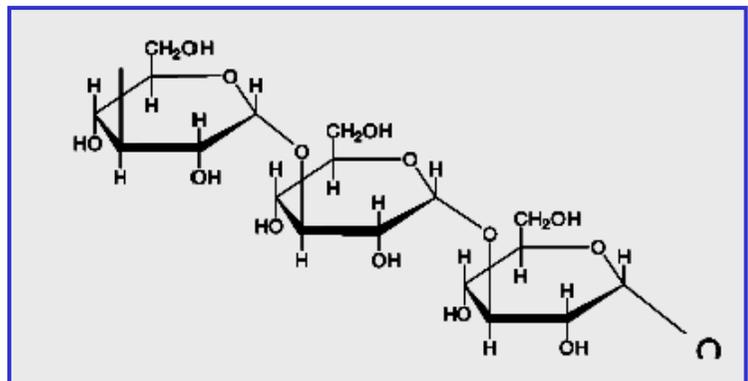


## Strutture di **GLUCANI**

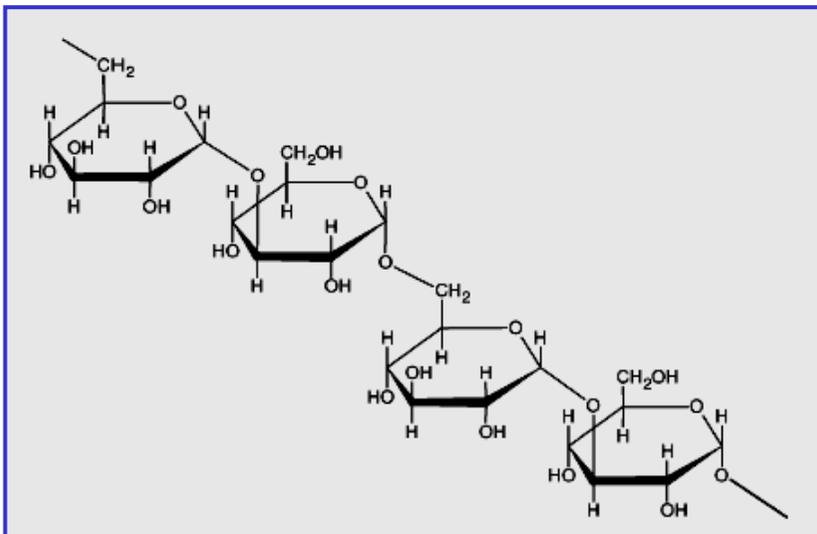
(glucansucrase; *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*)



**destrano** (*destransucrase*)  
(unità *D*-glucosidiche  $\alpha$ -1,6)

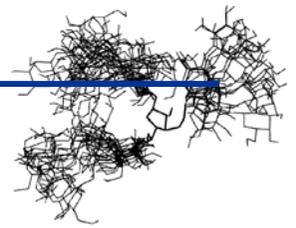


**Mutano** (*mutansucrase*)  
(unità *D*-glucosidiche  $\alpha$ -1,3)



**alternani** (*alternansucrase*)  
(unità *D*-glucosidiche  $\alpha$ -1,3  
alternate a legami  $\alpha$ -1,6)





Gli eteropolisaccaridi sono invece sintetizzati **a partire da precursori** che si formano a livello citoplasmatico.

Diverse molecole enzimatiche sono poi coinvolte nella biosintesi e nella secrezione esocellulare del polisaccaride completo. In questo complesso processo i nucleotidi legati alle molecole di zuccheri cioè gli “zuccheri attivati” rappresentano le molecole chiave della sintesi degli eteropolisaccaridi.

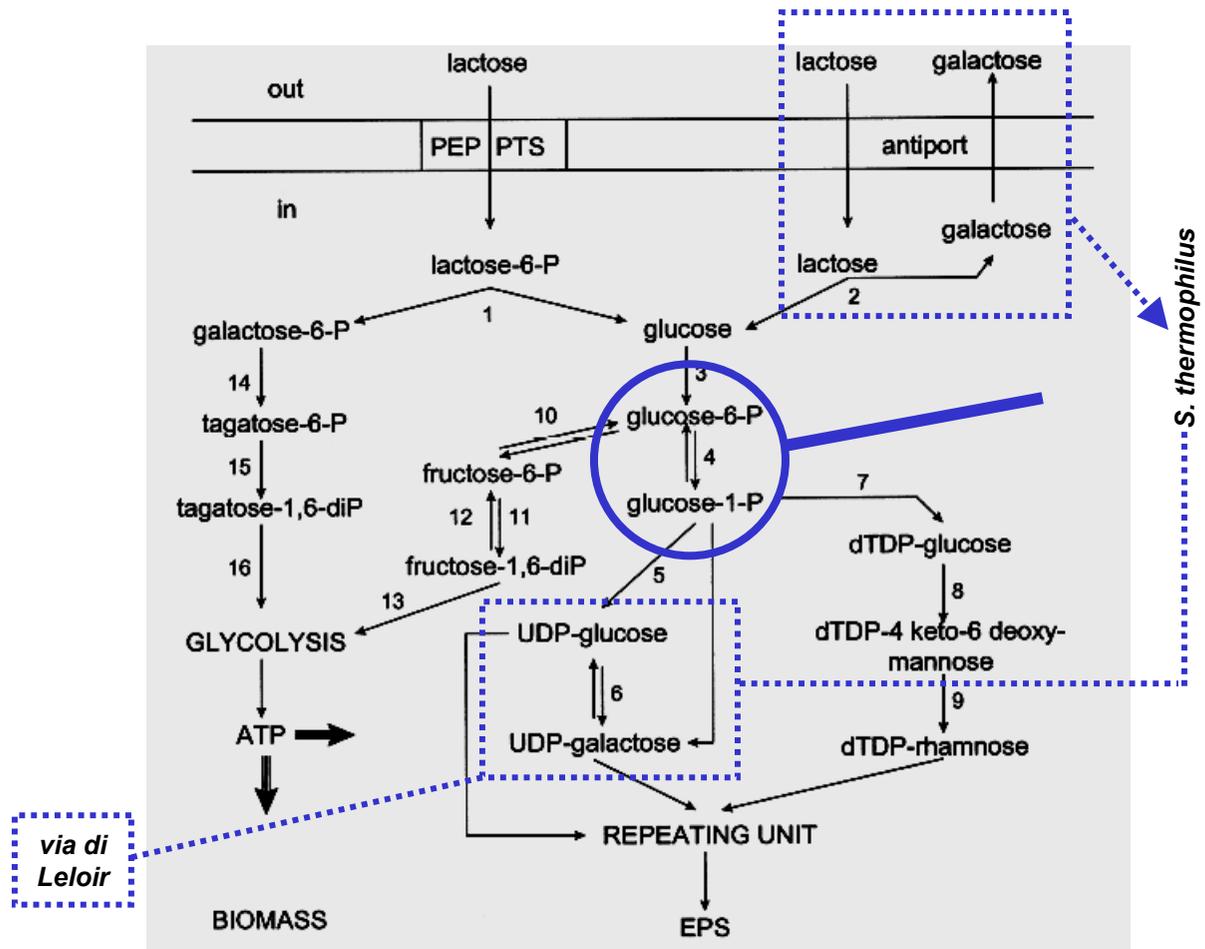
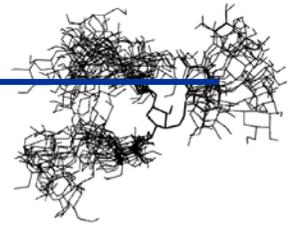


Fig. 3. Schematic representation of pathways involved in lactose catabolism (left and upper right) and exopolysaccharide biosynthesis (lower right) in lactose-fermenting *Lactococcus lactis* (lactose transport via a lactose-specific phosphotransferase primary transport system) and galactose-negative *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* (lactose transport via a lactose/galactose antiport secondary transport system) strains. The numbers refer to the enzymes involved: 1, phospho- $\beta$ -galactosidase; 2,  $\beta$ -galactosidase; 3, glucokinase; 4, phosphoglucomutase; 5, UDP-glucose pyrophosphorylase; 6, UDP-galactose-4-epimerase; 7, dTDP-glucose pyrophosphorylase; 8, dehydratase; 9, epimerase reductase; 10, phosphoglucose isomerase; 11, 6-phosphofruktokinase; 12, fructose-1,6-bisphosphatase; 13, fructose-1,6-diphosphate aldolase; 14, galactose 6-phosphate isomerase; 15, tagatose 6-phosphate kinase; 16, tagatose-1,6-diphosphate aldolase.



La composizione monomerica degli EPS sembra essere dipendente non solo dal livello di nucleotidi saccaridici nella cellula ma anche dall'efficienza con cui le unità monomeriche ripetute vengono assemblate nella catena polisaccaridica nascente. Il processo di polimerizzazione assembla da poche centinaia a diverse migliaia di unità attraverso l'intervento di **nucleosil transferasi** specifiche che trasferiscono l'unità zuccherina dai nucleotidi alla catena nascente del polisaccaride che è legata a un **carrier lipidico** legato alla membrana cellulare. Mentre la presenza di questo carrier è certa nei batteri Gram negativi, la sua presenza e il suo ruolo nei batteri lattici è stato dimostrato solo in via preliminare.

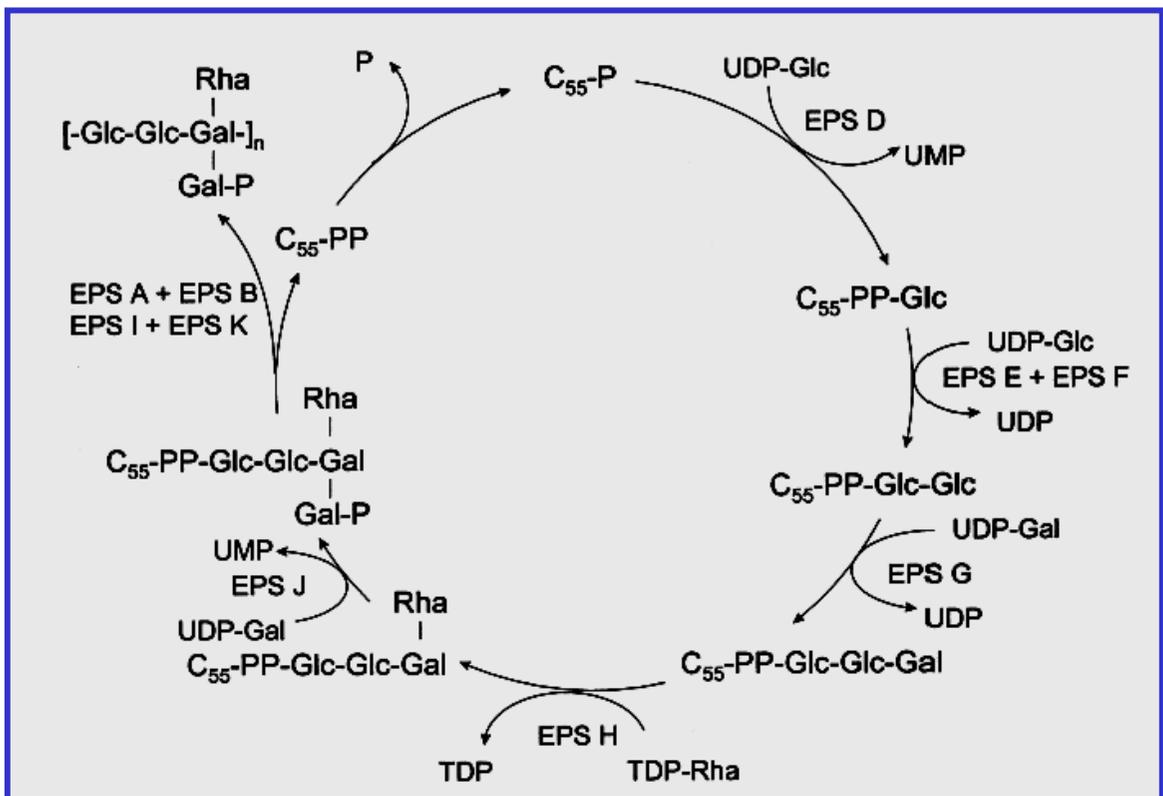
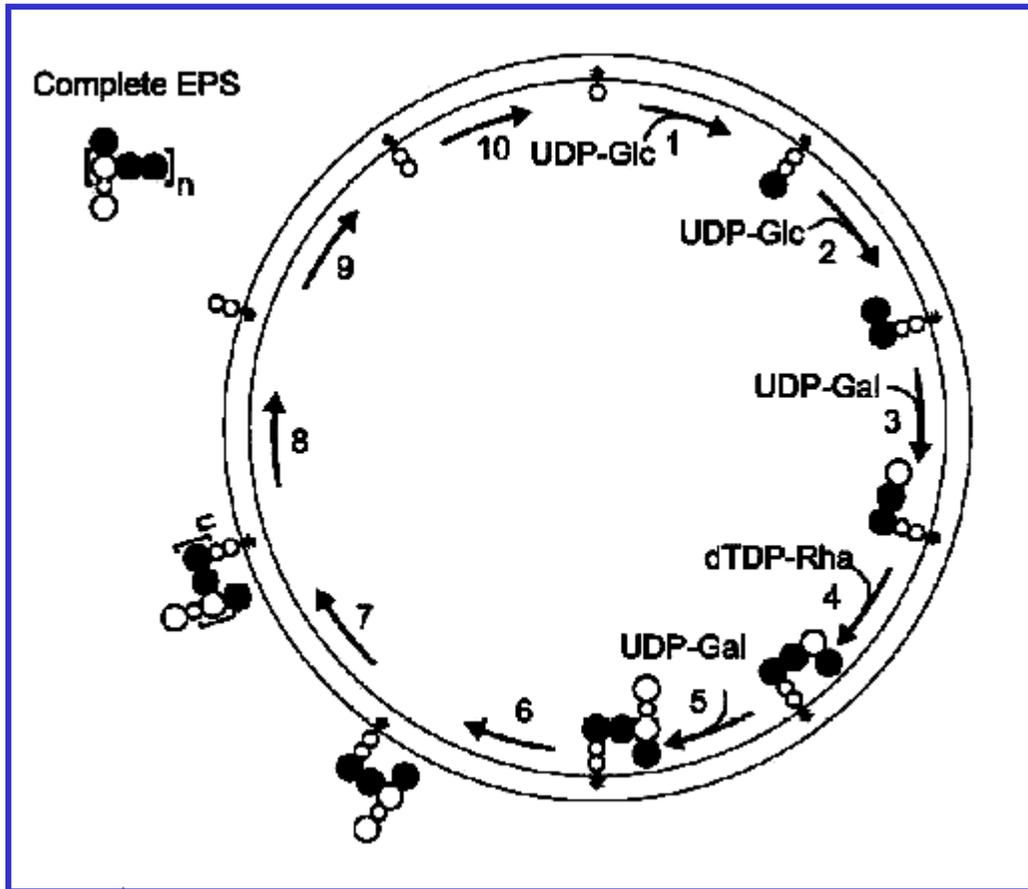
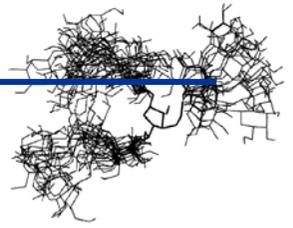
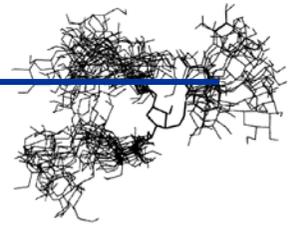


Fig. 4. Model for EPS biosynthesis in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NIZO B40 [85]. C55-P, lipid carrier; Glc, glucose; Gal, galactose; Rha, rhamnose; UDP-Glc, UDP-Gal and TDP-Rha are nucleotide sugars. For the abbreviations of the responsible enzymes: see Fig. 5A.



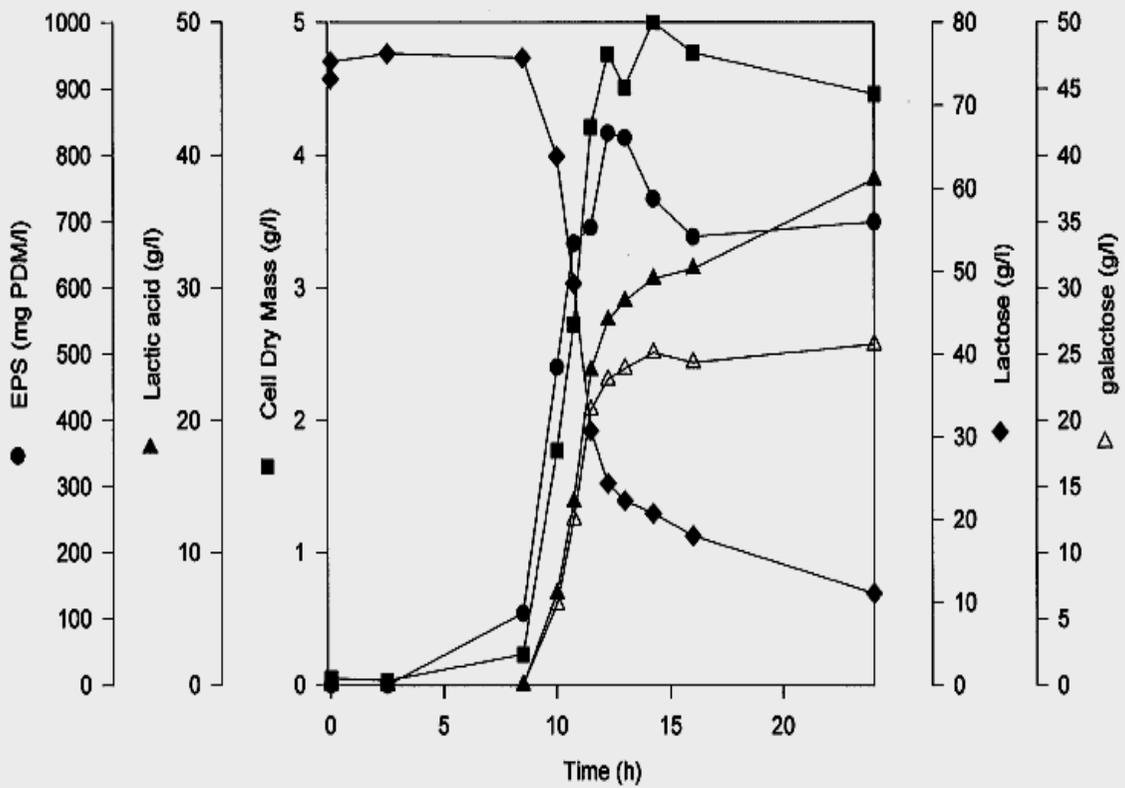
 Undecaprenyl phosphate  
  Glc  
  Gal  
  Rha

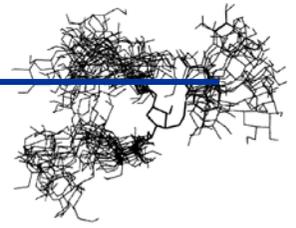
Fig. 5. Working model for NIZO B40 EPS biosynthesis at the lactococcal membrane. (1) EpsD links glucose-phosphate from UDP-glucose (UDP-Glc) to the lipid carrier. (2) EpsE and EpsF add the second glucose moiety. (3) EpsG adds galactose from UDP-galactose (UDP-Gal). The repeating unit is completed by the addition of rhamnose (Rha) from dTDP-rhamnose (dTDP-Rha) and galactose-phosphate from UDP-Gal, and EpsH (4) and EpsJ (5) are expected to be involved in these steps. Repeating units are predicted to be translocated across the membrane by activity of EpsK (6) and subsequently polymerized by EpsI, with EpsA and EpsB determining the chain-length (7,8). The lipid carrier is retranslocated (9) and dephosphorylated (10).



**Cinetica di biosintesi di EPS  
in *Streptococcus thermophilus* durante la crescita cellulare.**

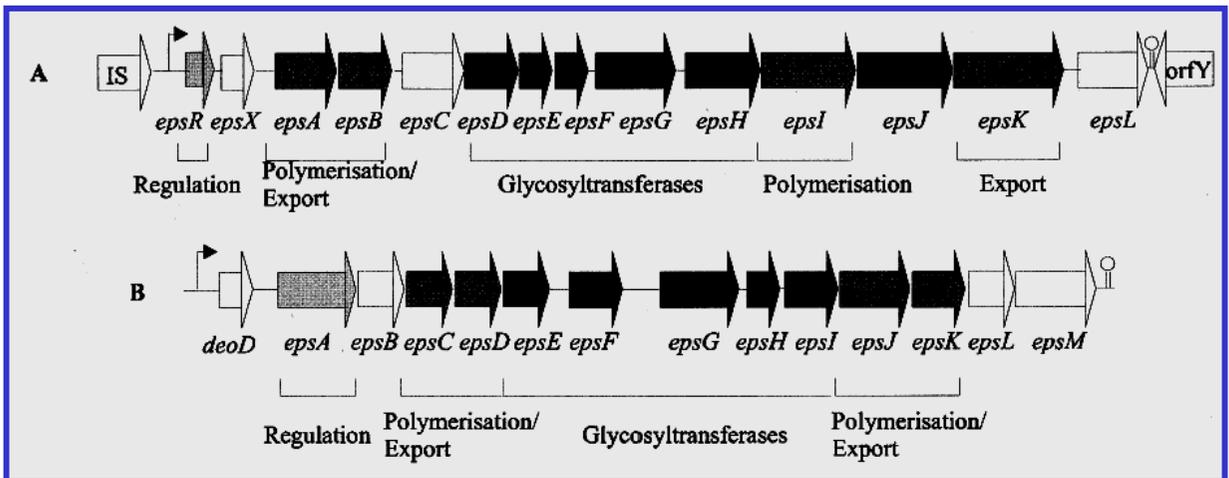
*B. Degeest et al. | International Dairy Journal 11 (2001) 747-757*



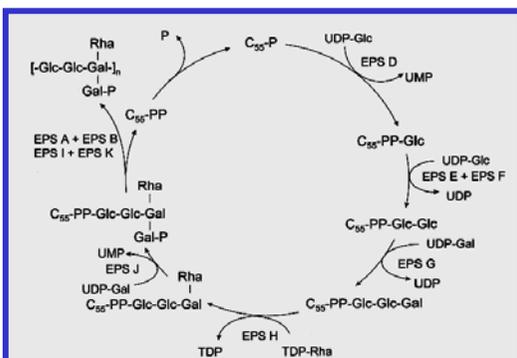


Durante l'ultimo step della biosintesi dell'EPS il polisaccaride di neosintesi viene traslocato attraverso la membrana cellulare seguendo poi due possibili destini: i) può essere liberato all'esterno della cellula (**slime EPS**) o ii) rimanerne legato sulla superficie (**capsular EPS**). L'intero processo di biosintesi richiede energia: una molecola di ATP è richiesta per la conversione degli esosi in esosi-fosfato; ulteriore energia è richiesta per la sintesi degli zuccheri attivati (nucleotidi-zucchero; UDP-Gal); una molecola di ATP è richiesta per la fosforilazione del carrier lipidico ( **C<sub>55</sub>** ); infine la polimerizzazione ed il trasporto richiedono presumibilmente energia. Questa grande richiesta di energia per la biosintesi di EPS non rappresenta un problema nei batteri aerobi mentre diventa un fattore limitante per i batteri anaerobi come i batteri lattici. In questo gruppo batterico si ottengono produzioni di EPS che variano dai 50 ai 350 mg/l con massimi intorno a 800 mg/l (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), ben lontani dalle produzioni tipiche dei batteri aerobi (30-50 g/l da *Xantomonas campestris*).

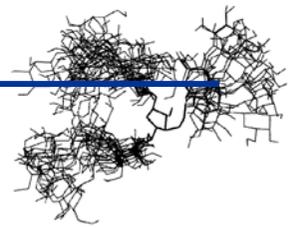
### Organizzazione molecolare dei geni coinvolti nella sintesi dei polisaccaridi in batteri lattici



A = organizzazione genica del cluster *eps* **plasmidico** in *L. lactis* subsp. *cremoris* NIZOB40  
 B = organizzazione genica del cluster *eps* **chromosomale** in *S. thermophilus*

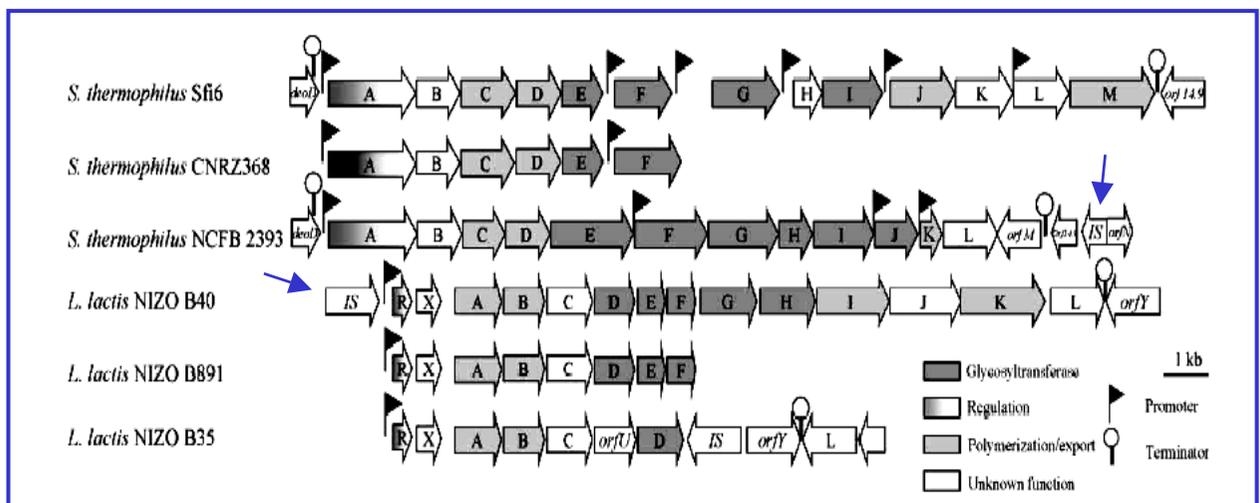


ruolo de geni *eps* nella biosintesi



La produzione di EPS nei batteri lattici è spesso caratterizzata da una significativa instabilità principalmente di tipo genetico ed in alcuni casi è conseguente all'attività di enzimi **glicoidrolitici** prodotti dalla cellule batteriche. In alcuni ceppi di batteri lattici la perdita della capacità di produrre EPS è spesso associata alla perdita dei plasmidi che ospitano i determinanti relativi genici. Questo accade per alcuni batteri lattici mesofili come *L. lactis* subsp. *cremoris*. Nella maggior parte dei casi, quando i determinanti genici sono a livello cromosomale, l'instabilità genetica sembra essere associata alla presenza di elementi mobili come le IS (Insertion sequences). In specifico, nel cluster genico di *S. thermophilus* sono state trovate ISS1 e IS1193.

### **Variabilità dei geni coinvolti nella sintesi dei polisaccaridi in *S. thermophilus* e *L. lactis***



L'assenza di qualche gene *eps* può non essere associata all'assenza di produzione di EPS. In specifico è stato osservato che esiste un gruppo di geni altamente conservato e presente nella maggior parte dei ceppi di *S. thermophilus* produttori e non produttori di EPS (*epsA-B-C-D*).

### **Ruolo fisiologico**

Gli EPS prodotti dai batteri lattici svolgono diversi ruoli fisiologici in quanto proteggono la cellula dalla disidratazione, degli stress osmotici, dall'attacco di batteriofagi, dall'attacco di protozoi, attenuano o bloccano l'effetto di sostanze tossiche e/o di antibiotici e consentono la formazione di biofilms e conferiscono la capacità di aderire alle superfici solide.