

Dekstran i dekstranazy — źródła mikrobiologiczne, właściwości i zastosowanie

Małgorzata Pleszczyńska
Zakład Mikrobiologii Przemysłowej
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
Lublin

1. Budowa dekstranu

Śluz węglowodanowe występujące w zakażonych syropach cukrowych, fermentujących warzywach i produktach mleczarskich stanowiły przedmiot zainteresowania naukowców już w drugiej połowie XIX w. Wtedy też, ze względu na chemiczne podobieństwo do dekstryn, nazwano je dekstranami. Jednak dopiero w późniejszych badaniach, szczególnie w tych prowadzonych w latach siedemdziesiątych i osiemdziesiątych naszego stulecia, dokładnie określono budowę dekstranu. Obecnie przyjmuje się, że „dekstrany” to wspólna nazwa dla bardzo obszernej i zróżnicowanej grupy wielocukrów bakteryjnych zbudowanych z reszt D-glukopiranozy połączonych ze sobą wiązaniami α -1,6-glikozydowymi. Dekstran syntetyzowany jest przez α -1,6-transglikozylazy (EC 2.4.1.5, dekstranosacharazy) wydzielane przez komórki bakterii mlekowych, należących głównie do rodzaju *Leuconostoc* i *Streptococcus*. Dekstranosacharaza *Leuconostoc* jest enzymem indukcyjnym i sacharoza jest jedynym naturalnie występującym induktorem tego enzymu. Dekstranotwórcze bakterie *L. mesenteroides* i *L. dextranicum* można wyizolować ze żeśluzowaciałych roztworów cukrowych, warzyw, owoców, produktów mleczarskich oraz soków drzew owocowych. Natomiast streptokokki, izolowane przede wszystkim z zębów, jamy ustnej i gardła ssaków, mogą wytwarzać dekstranosacharazę konstytutywnie na różnych źródłach węgla. Jednakże w obu wymienionych przypadkach synteza dekstranu zachodzi tylko w obecności sacharozy.

Struktura dekstranu, wielkość jego cząsteczek i stopień ich rozgałęzienia zależą głównie od szczepu bakterii wytwarzającej glukan, a nie od rodzaju czy gatunku, do którego ona należy. Niektóre mikroorganizmy syntetyzują jeden rodzaj rozpuszczalnego w wodzie polisacharydu, ale są również takie, które produkują dekstrany nierozpuszczalne, a inne szczepy tworzą nawet kilka różnych typów glukanów. Opisane dotychczas dekstrany można umownie zaliczyć do trzech klas. Klasa pierwsza skupia większość polisacharydów

tego typu. Należące tu dekstrany właściwe zbudowane są z łańcucha głównego — α -1,6-glukanowego — do którego poprzez wiązania α -1,2, α -1,3 lub α -1,4-glikozydowe przyłączone są łańcuchy boczne. Modelowym przedstawicielem tej grupy jest rozpuszczalny w wodzie dekstran wytwarzany przez *L. mesenteroides* B 512F. Łańcuch główny tego glukanu zbudowany jest z reszt glukozydowych połączonych wiązaniem α -1,6 (95%) z rozgałęzieniami w pozycji 3. Punkty rozgałęzień rozmieszczone są dość regularnie. Około 40% łańcuchów bocznych zawiera jedną resztę D-glukozy, 45% — dwie, a reszta jest zbudowana z większej liczby (30-50) jednostek glukozydowych. Dekstrany klasy drugiej zbudowane są z łańcucha głównego, zawierającego na przemian występujące wiązania α -1,3 i α -1,6 oraz z łańcuchów bocznych przyłączonych wiązaniem α -1,3. Znane są tylko trzy przykłady takich dekstranów. Jednym z nich jest rozpuszczalny glukan syntetyzowany przez *L. mesenteroides* B 1355. Łańcuch główny tego dekstranu zawiera 54% wiązań typowych oraz 35% wiązań α -1,3-glikozydowych. Ten typ dekstranu określa się jako alternan. Klasa trzecia obejmuje glukany zwane mutanami. Różnią się one od poprzednich tym, że w ich łańcuchu głównym występują tylko kolejne wiązania α -1,3 oraz mniej liczne wiązania boczne α -1,6-glikozydowe. Mutanem jest nierozpuszczalny polisacharyd *S. mutans* 6715, zawierający w łańcuchu głównym ok. 93% reszt glukozydowych połączonych wiązaniem α -1,3 (1).

2. Przemysłowa produkcja dekstranu natywnego

Początkowo pojęcie „dekstran” kojarzyło się raczej z zakażeniami różnych produktów spożywczych niż z substancją użyteczną dla człowieka. Dopiero w latach 1940-1950 zaczęto dostrzegać możliwości różnych zastosowań tego polisacharydu. Wtedy też podjęto szeroko zakrojone badania nad mikrobiologicznymi źródłami otrzymywania dekstranu i jego przemysłową produkcją.

Fermentacja dekstranowa jest procesem dość trudnym do opanowania ze względu na konieczność starannego doboru szczepów produkcyjnych spośród wielu różniących się nie tylko wydajnością, ale i jakością wytwarzanego dekstranu oraz z powodu dużych i różnorodnych wymagań wzrostowych poszczególnych szczepów. Organizmem powszechnie używanym w przemysłowej produkcji dekstranu jest wyizolowany w 1940 r. w Stanach Zjednoczonych szczep *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B 512F.

Tradycyjnie dekstran produkowany jest metodą fermentacyjną. Jest to proces jednoetapowy. Do namnażania kultury i produkcji dekstranu stosowane jest bogate podłoże zawierające jako źródło węgla sacharozę, zwykle w stężeniu 10%. Warunki fermentacji (poza temp. 20-25°C) nie są kontrolowane. Podłoże nie jest natleniane, a fermentacja — w zależności od tempa w jakim przebiega — jest prowadzona od 2 do 6 dni.

Wydajność procesu syntezy dekstranu wynosi średnio ok. 25% w przeliczeniu na wyjściową zawartość sacharozy, przy czym odpowiednio aktywne szczepy *L. mesenteroides* są w stanie wytworzyć nawet do 45% polimeru w stosunku do użytego cukru. W procesie fermentacji dekstranowej otrzy-

muje się tzw. dekstran natywny o masie cząsteczkowej wynoszącej od 50 kDa do 500 MDa (2-4).

W 1946 r. Hehre zaproponował enzymatyczną metodę produkcji dekstranu, która polega na wykorzystaniu do jego syntezy preparatu dekstranosacharazy otrzymanego z *L. mesenteroides*. Jej zaletą jest możliwość rozdzielania fazy produkcji enzymu od fazy syntezy dekstranu, przez co przebieg fermentacji łatwiej jest kontrolować, a otrzymany produkt jest bardziej homogeny i łatwiejszy do oczyszczenia. Metoda ta obejmuje: namnożenie inokulum i produkcję dekstranosacharazy (na podłożu z niską zawartością cukru, przy temp. 25°C i automatycznie kontrolowanym — na poziomie 7,0 jednostek-pH); usuwanie komórek bakterii z podłoża; syntezę dekstranu w ściśle kontrolowanych warunkach (mieszanina reakcyjna o pH 5,0 zawierająca 10% sacharozy i odpowiednią ilość enzymu) oraz frakcjonowanie i oczyszczanie dekstranu.

Przeciętna wydajność procesu wynosi ok. 28-30% w stosunku do wyjściowej zawartości cukru. Metoda enzymatyczna może też być użyta do syntezy dekstranu klinicznego o określonej, niskiej masie cząsteczkowej (5).

Propozycje udoskonalenia obu przedstawionych metod produkcji zaczęły pojawiać się wraz ze wzrostem znaczenia przemysłowego dekstranu. Część z nich dotyczy optymalizacji poszczególnych etapów fermentacji. Między innymi prowadzi się badania nad wpływem temperatury, natleniania oraz składu i odczynu podłoża na wydajność sacharazy dekstranowej (2,6,7). Do biosyntezy dekstranu próbuje się wykorzystywać enzymy o różnym stopniu oczyszczenia, a także dekstranosacharazę immobilizowaną lub syntetyzowaną przez unieruchomione komórki bakterii (8,9). Ostatnio pojawiły się również doniesienia o otrzymaniu mutantów *Leuconostoc* wytwarzających dekstranosacharazy w sposób konstytutywny (10). Duże znaczenie dla kontroli przebiegu procesu produkcyjnego ma zastosowanie nowoczesnych technik chromatograficznych, zarówno w odniesieniu do rozdzielania i oczyszczania powstających cukrów, jak i do określania profilu rozkładu masy cząsteczkowej produktów reakcji enzymatycznej (2).

3. Produkcja dekstranu klinicznego

Cechą charakterystyczną dekstranu — w porównaniu z innymi biopolimerami — jest to, że możliwości jego wykorzystania zależą ściśle od masy cząsteczkowej. Dekstran o niskiej masie ma największe zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym. Dekstran kliniczny używany jako czynnik zastępujący osocze krwi powinien mieć masę od 50 do 100 kDa, a stosowany do regulacji szybkości przepływu krwi — od 20 do 60 kDa. Również właściwości pochodnych dekstranu zależą od jego masy. Stąd też momentem krytycznym dla produkcji dekstranu przemysłowego jest otrzymanie czystych preparatów tego polimeru o kontrolowanej, w wąskim przedziale, masie cząsteczkowej.

Od wielu lat podstawową metodą uzyskiwania dekstranów o niskiej masie cząsteczkowej jest kosztowny i uciążliwy proces hydrolizy kwasowej, poła-

czony z frakcjonowaniem dekstranu natywnego rozpuszczalnikami organicznymi. Dekstran może być również częściowo depolimeryzowany przy użyciu zasad, enzymów, ultradźwięków, temperatury, ale żadna z tych metod nie została wprowadzona do praktyki przemysłowej (3) i ciągle poszukuje się innych, bardziej efektywnych. Jedną z propozycji było zastosowanie do syntezy dekstranu oczyszczonej dekstranosacharazy w połączeniu z odpowiednimi akceptorami glikozyłowymi. Już we wczesnych latach pięćdziesiątych zaobserwowano, że wprowadzenie niektórych cukrów do mieszaniny reakcyjnej zawierającej enzym i sacharozę prowadzi do syntezy oligosacharydów kosztem wysokocząsteczkowego dekstranu. Najbardziej efektywne w tym procesie, jak się okazało, były maltoza, izomaltoza i dekstrany o niskiej masie (11,12). Niestety, trudności w analizie i oczyszczaniu produktów reakcji oraz konieczność użycia do syntezy wysokooczyszczonej dekstranosacharazy sprawiły, że opisana metoda nie została zastosowana na szerszą skalę.

Nowy sposób produkcji dekstranu oparty na wykorzystaniu kultury mieszananej dekstranotwórczych bakterii *Leuconostoc mesenteroides* i drożdży *Lipomyces starkeyi* rozkładających dekstran, zaproponowano w latach dziewięćdziesiątych. Metoda ta pozwala wykluczyć etap hydrolizy kwasowej, a uzyskany niskocząsteczkowy produkt jest bardziej jednorodny niż otrzymany w procesie tradycyjnym (13).

4. Zastosowanie dekstranu

Praktyczne zalety dekstranu, takie jak wysoka lepkość i właściwości emulgujące umożliwiły zastosowanie tego polimeru i jego pochodnych w przemyśle, lecznictwie i analityce.

W przemyśle spożywczym dekstran jest stosowany jako zagęstnik i emulgator, a w kosmetyce służy jako składnik pudrów i pomadek. Polimer ten może z powodzeniem zastępować gumy i służy roślinne używane, np. do klejenia. Jest też wykorzystywany w drukarstwie tkanin, w przemyśle fotograficznym, jako dodatek do papieru i mas plastycznych oraz surowiec przy wyrobie tabletek i kapsułek (2,14).

Najważniejsze jednak znaczenie ma dekstran w lecznictwie, gdzie może być użyty jako środek zastępujący osocze krwi. Dzięki zdolności wiązania wody roztwory zawierające dekstran wywierają znaczne ciśnienie osmotyczne. Wpływa to na zwiększenie objętości osocza, a tym samym polepszenie przepływu krwi w układzie naczyń włosowatych oraz zmniejszenie jej lepkości. Dekstran odpowiada przy tym wszystkim wymaganiom stawianym środkiem krwiozastępczym, a zatem utrzymuje się w organizmie wystarczająco długo aby spełnić swoją rolę, a jednocześnie nie odkłada się w tkankach w takim stopniu jak inne stosowane wcześniej środki. Roztwór dekstranu można sterylizować w temperaturze 120°C, co pozwala na długie przechowywanie (krew zachowuje trwałość tylko przez 30 dni). Przy jego stosowaniu nie trzeba uwzględniać grupy krwi ani obawiać się zakażeń krwiopochodnych. Dekstran jest tańszy od krwi, gdyż może być produkowany na skalę przemysłową.

W terapii stosuje się dekstrany o różnej masie cząsteczkowej. Najczęściej jest to dekstran 40 (średnia masa ok. 40 kDa) używany jako środek polepszający przepływ krwi w naczyniach, dekstran 70 — zastępujący osocze krwi, tzw. „sztuczna plazma” oraz dekstran 1 — używany jako hapten przed podaniem dekstranu o wyższej masie. Utrzymywanie się dekstranu w krążeniu ogólnoustrojowym i jego eliminacja zależy ściśle od rozmiaru jego molekuł.

Dekstran do celów klinicznych po raz pierwszy zaczęto stosować w Szwecji w 1944 r. W ciągu następnych 10 lat powstało, głównie w Stanach Zjednoczonych, Wielkiej Brytanii i Szwecji, kilka fabryk produkujących ten rodzaj dekstranu. Rozwinęły się również badania dotyczące dekstranu klinicznego, o czym może świadczyć opublikowana w 1952 r. przez Jeanes bibliografia 410 doniesień związanych z tym zagadnieniem (15).

W późniejszych latach nastąpiło jednak ograniczenie w powszechnym stosowaniu dekstranu jako środka zastępującego osocze, przede wszystkim z powodu wykazania, że pewna część dekstranu o wyższej masie cząsteczkowej może utrzymywać się w ustroju przez dłuższy czas i ma predyspozycje do akumulowania się w tkankach. Dekstran taki podawany w dłuższym okresie lub w większych ilościach może być przyczyną reakcji alergicznych.

Obecnie roztwory dekstranu stosowane są głównie w chirurgii naczyniowej, w upośledzonym przepływie krwi w naczyniach i zakrzepowym zapaleniu żył, przy oparzeniach, różnego rodzaju wstrząsach, zatruciach i biegunkach (16).

Dekstran może być również wykorzystany w charakterze nośnika dla niektórych leków. Przyłączenie do polimeru zabezpiecza lek przed szybką eliminacją z ustroju, podnosi skuteczność jego działania, a tym samym umożliwia zmniejszenie dawki (17,18). Dekstranu używa się też do badania *in vivo* wprowadzanych do ustroju rozpuszczalnych w wodzie makromolekuł (19).

Wielorakie zastosowanie znalazły pochodne dekstranu. Otrzymano wiele różnych jego estrów i eterów o odmiennych właściwościach zależnych od typu i stopnia podstawienia oraz masy cząsteczkowej dekstranu.

Powszechnie używaną w biochemii odmianą dekstranu jest dekstran usieciowany, otrzymany w reakcji częściowo zhydrolizowanego glukanu i epichlorohydryny. W wyniku tej reakcji liniowe cząsteczki policukrowe dekstranu łączą się ze sobą tworząc struktury trójwymiarowe. W zależności od warunków procesu ilość wiązań łączących może być różna, co prowadzi do otrzymania preparatów o zróżnicowanym, ściśle określonym stopniu usieciowania. Dzięki dużej zawartości polarnych grup wodorotlenowych związki te łatwo chłoną wodę i pęczniąc tworzą elastyczne żele, które są wykorzystywane w chromatografii filtracyjnej jako sita molekularne. Wprowadzenie tego typu preparatów (o handlowej nazwie Sephadex) na rynek przez szwedzką firmę Farmacia Fine Chemicals zrewolucjonizowało oczyszczanie i rozdział chemicznie ważnych makromolekuł, takich jak m. in. białka, polisacharydy i kwasy nukleinowe (20).

Kolejną pochodną dekstranu jest siarczanowy ester tego polimeru. Właściwości tego związku zależą od masy cząsteczkowej dekstranu i ilości grup siarczanowych przypadających na resztę glukozową. Siarczan dekstranu

wysokocząsteczkowego jest toksyczny, ponieważ precypituje fibrynogen, ale zastosowanie do syntezy estru glukanu o niskiej masie cząsteczkowej wyraźnie obniża jego toksyczność.

Od kilkudziesięciu lat wykorzystuje się w medycynie właściwości antykoagulacyjne (np. do zapobiegania zatorom żylnym) oraz antylipemiczne siarczanu dekstranu. Związek ten wchodzi w reakcje z β -lipoproteinami i jako taki znalazł zastosowanie w różnych metodach analitycznych i preparatywnych, m.in. w oznaczaniu zawartości cholesterolu i innych lipoprotein w surowicy oraz w procedurze oczyszczania przeciwciał IgM (21,22).

W trakcie poszukiwań skutecznej terapii przeciw AIDS stwierdzono, że siarczan dekstranu — obok innych polisacharydów — może być potencjalnym, selektywnym inhibitorem różnych wirusów, m.in. *Herpes simplex*, cytomegalowirusa, wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej bydła, retrowirusów, w tym także wirusa HIV-1. W tym ostatnim przypadku siarczan dekstranu o masie 8 kDa blokuje, w doświadczeniach *in vitro*, tworzenie się syncytiów pomiędzy zainfekowanymi HIV i nie zainfekowanymi komórkami oraz hamuje infekcyjność wirusa w stosunku do komórek CD4+ i MT-4 poprzez oddziaływanie z glikoproteinami jego otoczki (23). Niestety, pomimo obiecujących wyników badań laboratoryjnych, kliniczne próby wykorzystania pochodnej siarczanowej dekstranu jako leku na AIDS nie dały spodziewanych rezultatów. Prace nad tym zagadnieniem trwają jednak, i ostatnio bada się możliwości zastąpienia siarczanu innymi pochodnymi dekstranu o znacznie większym powinowactwie do wirusa (24,25).

Merkaptodekstran (siarkodekstran) powstaje podczas działania tiooctanu na dekstran. Duże powinowactwo tego związku do jonów metali ciężkich, m. in. złota, srebra, rtęci i miedzi, przy stosunkowo niskiej toksyczności, umożliwia jego wykorzystanie jako leku w ostrych zatruciach metalami ciężkimi i w oczyszczaniu z nich środowiska naturalnego (26).

Wiele różnych pochodnych dekstranu otrzymano poprzez jego aktywację. Taki aktywny związek może być następnie wiązany z białkami i wykorzystany jako nośnik do unieruchamiania enzymów lub jako czynnik chroniący biokatalizatory przed inaktywacją (27,28). Otrzymano także produkt stanowiący połączenie dekstranu z hemoglobina, który można zastosować jako substytut krwi, ponieważ taki kompleks łączy funkcję zamiennika osocza i przenośnika tlenu (29).

5. Dekstran w przemyśle spożywczym

Dekstran, tak użyteczny w pewnych dziedzinach przemysłu, może być jednocześnie przyczyną wielu trudności w innych, zwłaszcza w przemyśle spożywczym, gdzie często pojawia się jako zanieczyszczenie w winie, piwie, sokach owocowych i warzywnych oraz innych produktach zawierających cukier.

Szczególnie duże straty sacharozы oraz trudności technologiczne związane z obecnością dekstranu występują w przemyśle cukrowniczym. Powstają one

w wyniku zakażeń bakteriami wytwarzającymi dekstran podstawowych surowców dla tego przemysłu, takich jak buraki i trzcina cukrowa. Warunki atmosferyczne w czasie kampanii cukrowniczej w znacznym stopniu decydują o wartości przetwórczej buraków. Naprzemienne występowanie okresów mrozu i ociepleń powoduje, że uszkodzone przez mróz buraki stają się dobrym podłożem dla rozwoju drobnoustrojów, m.in. z rodzaju *Leuconostoc*. Wytwarzana przez nie dekstranosacharaza przekształca sacharozę w dekstran natywny o masie rzędu wielu milionów daltonów oraz fruktozę. Z kolei bakterie z rodzaju *Aerobacter* i *Bacillus* syntetyzują z fruktozy lewan.

W świeżym, niezainfekowanym soku buraczanym dekstran i lewan występują w śladowych ilościach (do 50 ppm), natomiast w sokach zakażonych ilość dekstranu wzrasta do 5000 lub nawet do 32 000 ppm, szczególnie w burakach przemarzniętych, przechowywanych kilka dni w temp. 10-12°C (30). Zawartość lewanu jest jeszcze wyższa, ale nie wpływa on tak znacząco na proces produkcji jak dekstran surowy, który już przy stężeniu 100 ppm powoduje wystąpienie znacznych oporów podczas filtracji soku (31).

Skutkiem powstawania dekstranu i lewanu są nieodwracalne straty cukru i pogorszenie jakości soku buraczanego. W procesie ekstrakcji dekstran przechodzi z buraków do soku dyfuzyjnego, powodując wzrost lepkości soku, co w znacznym stopniu utrudnia proces jego filtracji. Innym niekorzystnym skutkiem obecności dekstranu jest zakłócanie procesu tworzenia kryształów cukru oraz zawyżanie polarymetrycznych odczytów zawartości sacharozy.

6. Dekstrany a próchnica zębów

Bakterie syntetyzujące dekstran, należące do rodzaju *Streptococcus*, mogą zagrażać zdrowiu ludzi i zwierząt. W latach sześćdziesiątych stwierdzono, że dekstran jest jednym ze składników płytki nazębnej i jako taki może być odpowiedzialny za rozwój próchnicy zębów.

Próchnica jest szeroko rozpowszechnioną chorobą infekcyjną, która niszczy szkliwo zęba i zębinę. Wywołują ją próchnicogenne bakterie, głównie *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus* i *S. salivarius*, które szczególnie łatwo kolonizują powierzchnię zębów. *S. mutans* jest podstawowym czynnikiem powstawania tzw. płytki nazębnej. Nazwą tą określa się złożone skupisko bakterii pokrywających powierzchnię zębów, osadzone na podłożu zbudowanym z polimerów pochodzenia bakteryjnego lub ślinowego. Płytkę tworzy się niezależnie od obecności pożywienia w jamie ustnej, ale ta powstająca „na czczo” jest zbudowana głównie z bakterii związanych z białkową błoną (*pellicle*) pokrywającą zęby — nie jest próchnicogenna — ale stanowi pierwszy, niezależny od sacharozy, etap powstawania właściwej płytki nazębnej. Etap drugi, zależny od sacharozy, polega na przyleganiu bakterii do powierzchni zębów i agregacji komórek. Powstająca płytka ma matrycę polisacharydową i niskie pH, które z czasem prowadzi do demineralizacji szkliwa i rozwoju próchnicy. W utworzonej w ten sposób niszy ekologicznej osiedlają się gatunki mikroorganizmów niezdolne do samodzielnej kolonizacji zębów (32).

Wspomniane polisacharydy płytki powstają dzięki aktywności licznych syntetyzowanych przez paciorkowce zmienne białek enzymatycznych, m.in. glikozylotransferaz i fruktozylotransferaz. Rezultatem ich działania jest wytworzenie co najmniej trzech rodzajów polimerów cukrowych: rozpuszczalnego w wodzie dekstranu o przewadze wiązań α -1,6; nierozpuszczalnego mutanu, zawierającego głównie wiązania α -1,3 oraz fruktanu (33).

Dekstrany rozpuszczalne mogą stanowić dodatkowe, zewnątrzkomórkowe źródło węgla i energii, a także odgrywać ważną rolę we wstępnym wiązaniu komórek bakterii do powierzchni zębów, ponieważ jak stwierdzili Schilling i Bowen (34), obecność sekwencji połączonych wiązaniami α -1,6 jest istotna dla procesów wiązania komórek *Streptococcus* do glukanów płytki. Powinowactwo do nich mają także zasocjowane z powierzchnią komórki lektyny *S. cricetus* i wiążące glukan białka *S. sobrinus*.

W prowadzonych od wielu lat badaniach wskazuje się, że zasadnicze znaczenie dla zdolności poszczególnych szczepów paciorkowców do wywoływania próchnicy ma synteza mutanu. Dotyczy to szczególnie etapu zależnej od sacharozy adhezji bakterii do powierzchni zębów. Syntetyzowany *de novo* mutan ułatwia przyleganie komórek do stałych powierzchni, doprowadzając do wytworzenia stabilnego połączenia pomiędzy paciorkowcami a błoną nazębną, a także umożliwia agregację bakterii występujących w niezależnych łańcuchach. Proces ten jest niezwykle złożony i na obecnym etapie badań nie można jeszcze dokładnie określić jego mechanizmu.

Wysunięto także hipotezę, według której za przyczepność *S. mutans* do różnego rodzaju stałych powierzchni, bardziej niż sam mutan, odpowiedzialna jest włączona w jego syntezę glikozylotransferaza. Enzym łatwo adsorbuje się na różnych powierzchniach (także na błonie pokrywającej zęby) i tak związany katalizuje wytwarzanie nierozpuszczalnego glukanu. Kohezja między glukanem związanym z powierzchnią a glukanem związanym z komórką bakterii następuje dzięki szczególnej strukturze polisacharydu o przewadze wiązań α -1,3 w łańcuchu głównym (35).

W opisywane procesy, jak się wydaje, zaangażowane są również, poza kilkoma rodzajami glikozylotransferaz (syntetazy 1,6- i 1,3,6- α -D-glukanu oraz syntetaza 1,3- α -D-glukanu), także dekstranazy i białka wiążące glukan, występujące na powierzchni ściany komórkowej bakterii.

7. Mikrobiologiczne źródła enzymów depolimeryzujących dekstran

Enzymy dekstranolityczne specyficznie hydrolizują wiązania α -1,6-glikozydowe w dekstranach, ich pochodnych i izomaltodekstrynach. Dekstranazy są klasyfikowane jako egzo- i endoenzymy. Egzodekstranazy, które obejmują glukozydazę dekstranową (EC 3.2.1.70), izomaltodekstranazę (EC 3.2.1.94) oraz egzoizomaltotriodekstranazę (EC 3.2.1.95), odszczepiają jedną, dwie lub trzy jednostki glukozyłowe od nieredukującego końca łańcucha dekstranowego (36-38). Endodekstranazy, czyli glukanohydrolazy α -1,6-D-glukanu (EC 3.2.1.11), hydrolizują wiązania α -1,6-glikozydowe wewnątrz łańcucha dekstra-

nowego, uwalniając niskocząsteczkowe izomaltosacharydy, zwykle zawierające od 2 do 5 jednostek glukozowych (39).

Najbogatszym źródłem dekstranaz są drobnoustroje, głównie bakterie i grzyby, ale odpowiadające im enzymy znaleziono również w tkankach ssaków i roślin wyższych.

7.1. Dekstranazy bakteryjne

Pierwszymi organizmami, u których stwierdzono obecność enzymów rozkładających dekstran były bakterie *Cellvibrio fulva* (40). Dekstranazy wytwarzane przez bakterie są grupą enzymów dość zróżnicowanych, zwłaszcza jeśli chodzi o mechanizm działania i lokalizację w komórce.

Wiele szczepów bakteryjnych syntetyzuje jedynie egzodekstranazy. Przykładem są choćby bakterie *Arthrobacter globiformis* i *Alcaligenes* sp. Pierwsza wytwarza enzym o małej specyficzności (EC 3.2.1.94), który uwalnia jedynie izomaltozę z izomaltooligosacharydów i innych glukooligosacharydów połączonych wiązaniami alfa, rozszczepiając nie tylko wiązania α -1,6-glikozydowe, ale i α -1,2, α -1,3 i α -1,4 (37,41). *Alcaligenes* sp. syntetyzuje zewnątrzkomórkowy enzym, który hydrolizuje dekstran dając jako jedyny produkt końcowy izomaltotriozę. Enzym ten został sklasyfikowany jako izomaltotriohydrolaza α -1,6-D-glukanu (38).

Ważną grupą mikroorganizmów syntetyzujących enzymy dekstranolityczne są bakterie jamy ustnej. Szczególnie wiele uwagi poświęcono badaniu dekstranaz paciorkowców zmiennych (grupa *S. mutans*). *S. mutans* wytwarza różnego rodzaju dekstrany i wywołuje próchnicę zębów u ludzi i zwierząt. Endodekstranaza *S. mutans* rozkłada dekstran do izomaltosacharydów o stopniu polimeryzacji od 2 do 5 (42). U niektórych szczepów wymienione oligosacharydy są transportowane do komórki i tam rozkładane przez drugi enzym — glukozydazę dekstranową — do glukozy (43).

Rola dekstranazy w biologii paciorkowców nie została, jak dotąd, do końca wyjaśniona, jednak w badaniach mutantów nie wytwarzających endodekstranazy (mutanty *dex A*) dowiedziono, że enzym jest jednym z czynników wirulencji *Streptococcus*. Mutanty *dex A* mają obniżoną zdolność do wywołania próchnicy u zwierząt doświadczalnych w porównaniu ze szczepami rodzicielskimi (44), przy czym, jak wskazuje się w przeprowadzonych badaniach, dotyczy to tylko zwierząt z normalną mikroflorą, a nie osobników gnotobiotycznych (45). Przypuszcza się zatem, że dekstranaza ma udział w tworzeniu specyficznej niszy ekologicznej dla paciorkowców próchnicogennych wśród złożonej mikroflory płytki nazębnej. Odbywać się to może poprzez oddziaływanie enzymu na relacje między glikozylotransferazami bakterii, a co za tym idzie, modyfikację lub zaburzenie syntezy zewnątrzkomórkowych polisacharydów bakteryjnych w już istniejącej lub powstającej płytce nazębnej. Inną możliwą funkcją dekstranazy jest hydroliza dekstranu, co umożliwiłoby jego wykorzystanie jako materiału zapasowego i zapewniałoby mikroorganizmowi mającym takie zdolności przewagę ekologiczną nad tymi, które ich nie posiadają (46).

7.2. Dekstranazy drożdżowe

W ostatnich kilkunastu latach nowym, atrakcyjnym źródłem enzymów dekstranolitycznych stały się drożdże z rodzaju *Lipomyces*, *Trichosporon* i *Cryptococcus* (47-49).

Wymienione drobnoustroje nie należą, co prawda, do wysokoaktywnych producentów dekstranazy, ale w przeciwieństwie do enzymów pleśniowych dekstranaza drożdżowa może być bez przeszkód dopuszczona do użycia w przemyśle spożywczym. Drożdże bowiem nie wytwarzają ani antybiotyków ani innych toksycznych metabolitów. Dekstranazy drożdżowe wykazują przy tym podobne właściwości jak odpowiadające im enzymy izolowane z grzybów nitkowatych. Są typowymi endodekstranazami wydzielanymi na zewnątrz komórki w środowisku zawierającym dekstran. Najwyższą aktywność enzymatyczną osiągają w temperaturze 50-55°C i w odczynie środowiska wynoszącym 5,0-6,0. Zachowują stabilność w pH od 2,5 do 7,0 przy temperaturze poniżej 40°C (49,50).

Możliwość wykorzystania dekstranaz drożdżowych w przemyśle stała się impulsem do poszukiwania szczepów o zwiększonej aktywności enzymatycznej. W wyniku mutagenizacji kultury *Lipomyces kononenkoae* wyselekcjonowano mutanta opornego na kataboliczną represję syntezy dekstranazy. Mutant syntetyzował duże ilości enzymu na podłożach bez dekstranu, a szczególnie na scukrzzonej skrobi kukurydzianej (51).

Otrzymano również zderepresjonowane mutanty *L. starkeyi*, które następnie posłużyły do uzyskania szczepu częściowo konstytutywnego pod względem syntezy dekstranazy (52). Są to osiągnięcia o tyle istotne, że jak dotąd znanych jest tylko kilka mikroorganizmów zdolnych do syntezy dekstranazy przy braku dekstranu w podłożu. Należą do nich *Actinomyces israeli*, *Streptococcus mutans*, *Sporotrichum asteroides* i *Trichosporon cutaneum*, jednakże i u nich aktywność enzymu wytwarzanego w tych warunkach jest niewielka (47,49,53).

7.3. Dekstranazy grzybów nitkowatych

Pierwsze doniesienia o obecności u grzybów strzępkowych nowego enzymu zdolnego depolimeryzować dekstran zawdzięczamy badaczom szwedzkim, którzy znaleźli niewielkie jego ilości w komórkach *Penicillium funiculosum*, *P. lilacinum* i *Verticillium coccorum* (54).

Na początku lat siedemdziesiątych duże nadzieje wiązano z możliwością zastosowania preparatów dekstranazy w dentystyce, co znacznie ożywiło badania zmierzające do znalezienia nowych, efektywnych producentów enzymu oraz zwiększania aktywności syntetyzowanej dekstranazy, np. poprzez optymalizację warunków hodowli.

Wytwarzanie enzymów dekstranolitycznych stwierdzono u grzybów z rodzaju *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Spicaria*, *Verticillium* i *Paecilomyces*. Obecnie właśnie grzyby nitkowate, a szczególnie takie ich gatunki jak *Penicillium funiculosum*, *P. lilacinum*, *P. aculeatum* i *Chaetomium*

gracile są uznawane za najlepsze źródła pozyskiwania preparatów dekstranolitycznych do celów aplikacyjnych (55-59).

Enzymy degradowujące dekstran pochodzące z rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus* wykazują najwyższą aktywność w przedziale pH od 4,5 do 6,0 oraz w temperaturze w granicach od 50 do 60°C. Są stabilne w odczynie od 4,5 do 7,0 i w temperaturze poniżej 50°C (55-57,60,61). Wyjątkową wśród dekstranaz stabilnością charakteryzuje się enzym pochodzący z *Ch. gracile*, który zachowuje aktywność w pH od 5,5 do 11,0 i w temperaturze do 55°C, przy czym, jak wykazano, stabilność dekstranazy znacznie wzrasta w obecności dekstranu (59).

Na podstawie uzyskanych wyników z szeroko zakrojonych badań nad dekstranazami grzybowymi stwierdzono, że większość grzybów nitkowatych syntetyzuje zewnątrzkomórkowe endodekstranazy. Dekstranazy te łatwo i z dużą efektywnością rozkładają dekstrany słabo rozgałęzione, izomaltodekstryny i ich pochodne. Natomiast stopień depolimeryzacji pozostałych α -1,6-glukanów jest ściśle związany z ilością i naturą występujących w ich cząsteczkach wiązań bocznych oraz z liczbą występujących w łańcuchu głównym polisacharydu wiązań glikozydowych różnych od α -1,6. Hydrolizie dekstranu towarzyszy szybki spadek lepkości substratu, występujący jeszcze przed uwolnieniem dużej ilości cukrów redukujących. Końcowymi produktami rozkładu są głównie izomaltoza, izomaltotrioza i wyższe izomaltooligosacharydy oraz zwykle niewielkie ilości glukozy, przy czym mechanizm działania poszczególnych dekstranaz grzybowych może być zróżnicowany (60,62-64).

W ostatnich latach pojawiło się wiele doniesień na temat klonowania i ekspresji genów kodujących dekstranazę, jednak odnosiły się one tylko do enzymów bakteryjnych. Dopiero w 1996 r. po raz pierwszy opublikowano wyniki badań dotyczących klonowania genu dekstranazy grzybowej. Garcia i wsp. oraz Roca i wsp. wyizolowali i scharakteryzowali gen kodujący enzym, który pochodził z *Penicillium minioluteum*. Autorzy opisali także jego ekspresję w komórkach metylenotroficznych drożdży *Pichia pastoris* (65,66).

8. Zastosowanie dekstranaz

Enzymy dekstranolityczne (głównie pochodzenia grzybowego) znalazły zastosowanie w przemyśle cukrowniczym do usuwania dekstranu z zainfekowanych soków dyfuzyjnych, w produkcji dekstranu klinicznego oraz w profilaktyce próchnicy zębów.

8.1. Dekstranaza w przemyśle cukrowniczym

W praktyce przemysłowej bardzo skutecznym sposobem przywracania sprawności stacjom filtrów, których używa się przy obróbce soków buraczanych i trzcinowych zawierających dekstran o dużej lepkości, okazało się, dodawanie do nich enzymów depolimeryzujących ten glukan. Metodę taką, z użyciem enzymu pochodzącego z *Ch. gracile*, od ponad dwudziestu lat

stosuje się w cukrowniach australijskich (67). Podczas mroźnej kampanii w 1985 r. z powodzeniem użyto dekstranazy z *P. lilacinum* do obróbki zamrażanych i odtajanych buraków w Danii (68). W Niemczech prowadzi się w ostatnich latach badania nad możliwością enzymatycznej degradacji dekstranu w związku z kłopotami z zainfekowanym surowcem (69). Są też dane o stosowaniu dekstranazy w Brazylii, Meksyku, na Kubie i w krajach byłego Związku Radzieckiego (63,70). W Polsce ośrodkiem, w którym prowadzone są badania nad wytwarzaniem i wykorzystaniem enzymów dekstranolitycznych jest Instytut Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej (71).

Dekstranazy przemysłowe charakteryzują się optymalnym pH w przedziale od 5,0 do 6,0 jednostek i optymalną temperaturą w granicach 50-60°C. Ze względu na te właściwości mogą być stosowane do usuwania dekstranu jedynie w czasie ekstrakcji lub po uzyskaniu soku surowego. Zwykle w celu degradacji dekstranu w sokach cukrowniczych dodaje się do nich od 10 do 120 ppm enzymu, zależnie od jego właściwości, czasu kontaktu z substratem oraz stopnia zakażenia surowca (72).

Z przytoczonych danych wynika, że koszty stosowania enzymu w czasie kampanii prowadzonej w niesprzyjających warunkach mogą być znaczne. Jedną z dróg prowadzących do ich obniżenia jest poszukiwanie nowych producentów o zwiększonej aktywności dekstranolitycznej lub wytwarzających enzymy o korzystniejszych, z punktu widzenia przemysłu, cechach, np. bardziej termostabilne. Wspomniano, że dotychczas używane dekstranazy są najbardziej aktywne w temp. 50-55°C, przy czym są w tych warunkach mało stabilne. Ogranicza to w znacznym stopniu możliwości ich stosowania w czasie cyklu produkcyjnego. W prowadzonych w ostatnich latach badaniach zmierza się w kierunku poszukiwania mikroorganizmów produkujących endodekstranazy aktywne i stabilne w 75°C, które pozwoliłyby na skuteczniejszą obróbkę zanieczyszczonych soków (73). Zwiększoną stabilność dekstranazy, a także możliwość wielokrotnego jej wykorzystania można uzyskać również poprzez immobilizację enzymu na różnych nośnikach (74,75).

Z przemysłem cukrowniczym wiąże się też inne zastosowanie dekstranazy. Nadal otwartą sprawą pozostaje opracowanie prostej, szybkiej i dokładnej metody oznaczania dekstranu w sokach dyfuzyjnych, co ważne jest nie tylko dla ustalenia dawki enzymu koniecznej do usunięcia oporów filtracji, ale i ze względu na wywoływane przez dekstran zakłócenia pomiarów skręcalności optycznej, które używane są w standaryzacji i oznaczaniu czystości sacharozy.

Opracowano i przetestowano wiele metod oznaczania dekstranu, jednakże żadna z nich nie znalazła szerokiego zastosowania w przemyśle cukrowniczym. Główną wadą badanych procedur, jak się okazało, była ich niespecyficzność i dlatego obecnie duże nadzieje wiąże się z oznaczaniem dekstranu z użyciem dekstranazy. Jeden z prostszych testów tego typu polega na połączeniu metody zmętnieniowej, wykorzystującej ograniczoną rozpuszczalność dekstranu w roztworach z etanolem, z enzymatyczną. W przypadku tej metody usuwanie białek i innych związków tworzących koloidy nie jest potrzebne, ponieważ pochodzące od nich zmętnienie występuje w dwóch równole-

głych próbach, z których jedna była poddana działaniu dekstranazy. Ilość dekstranu wyznacza się z różnicy absorpcji w próbkach przed i po hydrolizie enzymatycznej (76). W zmodyfikowanej postaci metodę tę testowali Kubik i wsp. i ocenili ją jako przydatną do oznaczania większych niż 200 ppm ilości dekstranu w sokach buraczanych (71).

Enzymy dekstranolityczne znalazły praktyczne zastosowanie również do badania struktury dekstranów i innych polimerów glukozy oraz do doskonalenia procesów ich oczyszczania (77).

8.2. Dekstranaza w produkcji dekstranu klinicznego

Tradycyjny sposób produkcji dekstranu klinicznego nie zmienił się od ponad czterdziestu lat. Próby jego ulepszenia poprzez zastąpienie hydrolizy kwasowej enzymatyczną nie przyniosły spodziewanych rezultatów i pomimo opatentowania tej metody nie zastosowano jej w przemyśle (4). Przemysłowa hydroliza natywnych dekstranów do produktów o średniej masie cząsteczkowej wymaga specjalnego typu endodekstranazy, która we wczesnej fazie hydrolizy odszczepiałaby małe ilości niskocząsteczkowych oligosacharydów i dawała rozdział masy cząsteczkowej podobny jak metoda kwasowa. Ponadto hydroliza enzymatyczna będzie nieopłacalna dopóki nie będzie można wykorzystać do niej enzymów immobilizowanych lub w inny sposób odzyskiwanych dla ponownego użycia.

W latach 1992-1995 Kim i Day opracowali prosty i praktyczny sposób produkcji dekstranów o żądanej masie cząsteczkowej (10,13,52). Nowy proces, fermentacja z użyciem kultur mieszanych, wymaga drożdży zdolnych do konstytutywnej syntezy dekstranazy na sacharozie lub fruktozie oraz dekstranotwórczej bakterii *L. mesenteroides* B 512F. Dekstran o założonym rozmiarze cząsteczek można uzyskać poprzez właściwą kontrolę wzrostu obydwu mikroorganizmów i warunków reakcji enzymatycznej. We wstępnej fazie procesu obydwie szczepy rosną oddzielnie, potem miesza się je i fermentacja jest prowadzona aż do momentu uzyskania dekstranu o właściwej masie cząsteczkowej. Autorzy wskazują, że ten jednoetapowy proces pozwala otrzymać duże ilości dekstranu o niskim wskaźniku polidispersyjności, przy znacznie mniejszych nakładach niż w metodzie tradycyjnej, co daje duże szanse na szybkie wdrożenie go do produkcji.

8.3. Dekstranaza w medycynie

Od momentu stwierdzenia, że dekstran i inne dekstranopodobne, nierozpuszczalne glukany wchodzą w skład płytki nazębnej rozpoczęły się badania nad zastosowaniem dekstranazy w profilaktyce i leczeniu próchnicy zębów. Zainteresowanie tym enzymem wynika z jego zdolności do hydrolizowania wielocukrów tworzących szkielet płytki, co w rezultacie mogłoby ułatwić jej usuwanie z powierzchni zębów.

Wczesne badania dotyczyły przede wszystkim wpływu egzogennej (grzybowej) dekstranazy na strukturę, właściwości i ilość glukanów syntetyzowa-

nych przez bakterie jamy ustnej, a także oceny możliwości rozkładania przy jej użyciu płytki nazębnej.

Wyniki tych badań okazały się niestety niejednoznaczne. W licznych jednostkowych eksperymentach prowadzonych *in vitro* stwierdzano, że preparaty dekstranazy mogą częściowo depolimeryzować rozpuszczalny i nierozpuszczalny w wodzie dekstran, hamować syntezę glukanu nierozpuszczalnego, a w konsekwencji usuwać utworzoną przez czyste kultury paciorkowców zmiennej sztucznej płytkę przylegającą do gładkich powierzchni (78,79). Jednak już wcześniej zaobserwowano, że glukany wytwarzane przez paciorkowce próchnicogenne są bardziej odporne na trawienie dekstraną niż te pochodzące z bakterii nie wywołujących próchnicy (80). Ponadto w doświadczeniach *in vivo* Guggenheim i wsp. (81) stwierdzili, że dekstranaza uzyskiwana z *P. lilacinum* jedynie w ograniczonym stopniu hamuje rozwój próchnicy u szczurów, i to tylko w warunkach względnej gnotobiozy. Odmienne pod tym względem wyniki doświadczeń przedstawili wszakże Fitzgerald i wsp. (82), którzy zaobserwowali, że α -1,6-glukanazy różnego pochodzenia skutecznie zapobiegają odkładaniu się płytki nazębnej i indukcji próchnicy u chomików utrzymywanych na diecie wysokocukrowej. Podobne, pozytywne rezultaty uzyskano także na innych modelach zwierzęcych (83).

Spodziewanych rezultatów nie przyniosły jednak także kliniczne próby stosowania dekstranazy do zapobiegania i leczenia próchnicy u ludzi (84). Prawdopodobną przyczyną niepowodzeń była zbyt mała stabilność dekstranazy w warunkach panujących w jamie ustnej, krótki czas kontaktu z substratem enzymu podawanego z pożywieniem lub w płynach do płukania ust i pastach do zębów, a przede wszystkim niski stopień hydrolizy glukanu nierozpuszczalnego, co nie zapewniało efektywnego usuwania płytki nazębnej. Jednym ze sposobów przezwyciężenia tych trudności jest stosowanie dekstranazy w połączeniu z innymi enzymami. W 1972 r. otrzymano z *Trichoderma harzianum* enzym zwany mutanazą, rozkładający wiązania α -1,3-glikozydowe w mutanie i doniesiono, że mutanaza osłabia kolonizację płytki przez *S. mutans* oraz hamuje jej tworzenie się u ludzi (85,86). W ostatnim dziesięcioleciu opatentowano wiele receptur past do zębów, zawierających oprócz wysokoskoncentrowanej dekstranazy także mutanazę i inne enzymy (87).

Do walki z próchnicą próbuje się też wykorzystać metody inżynierii genetycznej. Kubo i wsp. skonstruowali plazmid pochodzący z bakterii *Arthrobacter* sp. kodujący wytwarzanie i wydzielanie dekstranazy. Plazmid wprowadzono do *Streptococcus gordonii*, bakterii kolonizującej powierzchnię zębów. W ten sposób stała się możliwa ciągła produkcja enzymu w jamie ustnej, co w znacznym stopniu obniżało przyleganie do szkliwa zębów nierozpuszczalnego w wodzie dekstranu. Przypuszcza się, że zmienioną genetycznie bakterię będzie można wykorzystać do zapobiegania próchnicy (88).

Obecnie uwaga genetyków, biochemików i immunologów skupia się raczej na poznaniu mechanizmu patogenności *S. mutans*, a w tym roli endogennej dekstranazy. Szczególne znaczenie mają tutaj prace genetyczne. Dotychczas sklonowano geny kodujące egzodekstranazę z komórek *S. salivarius* (46), *S. sobrinus* (89) oraz endo- i egzodekstranazę z komórek *S. mutans*. Geny *dex A*

i dex B z *S. mutans* zsekwencjonowano (43,90). Wyniki tych prac umożliwiły rozpoczęcie prób skonstruowania bezpiecznej i skutecznej szczepionki przeciw próchniczej. Prowadzi się je dwiema drogami: poprzez badanie indukcji układu immunologicznego przez podawane doustnie antygeny *S. mutans* oraz wykorzystanie awirulentnej *Salmonella* jako nośnika genów paciorkowców zębowych (91).

Poza dentystryką enzymy rozkładające dekstran użyto w leczeniu bakteryjnego zapalenia wsierdzia. Jest to choroba wywoływana przez paciorkowce syntetyzujące glukany z sacharozy. Pierwszym rezultatem zakażenia jest przytwierdzenie się bakterii do zastawek serca i wytworzenie na nich wyrostki, czemu sprzyja obecność związanego z komórką dekstranu. Polisacharyd otaczający paciorkowce niekorzystnie wpływa na pomyślność terapii antybiotykowej. Połączenie antybiotyku z dekstranazą, która może zhydrolizować dużą część bakteryjnego glukanu znacznie podnosi skuteczność leku (92).

Literatura

1. Robyt J. F., (1986), *Encycl. Polym. Sci. Eng.*, 4, 752-767.
2. Alsop R. M., (1984), *Prog. Ind. Microbiol.*, 18, 1-44.
3. Baker P. J., (1959), *Industrial gums. Polysaccharides and their derivatives*, Ed. Whistler R. L., 531-563, Academic Press, New York.
4. Jeanes A., (1965), *Methods Carbohydr. Chem.*, 5, 118-126.
5. Hehre E. J., (1946), *J. Biol. Chem.*, 163, 221-233.
6. Ajongwen N. J., Barker P. E., (1993), *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 56, 113-118.
7. Lazić M. L., Veljković V. B., Vučetić J. I., Vrvic M. M., (1993), *Enzyme Microb. Technol.*, 15, 334-338.
8. Monsan P., Lopez A., (1981), *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 2027-2037.
9. Sayed A. -H. M. M., Mahmoud W. M., Coughlin R. W., (1990), *Biotechnol. Bioeng.*, 36, 83-91.
10. Kim D., Day D. F., (1994), *Enzyme Microb. Technol.*, 16, 844-848.
11. Hellman N. N., Tsuchiya H. M., Rogovin S. P., Lamberts B. L., Tobin R., Glass C. A., Stringer C. S., Jackson R. W., Senti F. R., (1955), *Ind. Eng. Chem.*, 47, 1593-1598.
12. Paul F., Oriol E., Auriol D., Monsan P., (1986), *Carbohydr. Res.*, 149, 433-441.
13. Day D. F., Kim D., (1992), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 672, 537-576.
14. Santiesteban C. M., (1986), *Sobre Deriv. Cana Azucar*, 20, 21-27.
15. Jeanes A., (1952), *Northern Regional Research Laboratory*, Peoria, Illinois.
16. Podlewski J. K., Chwalibogowska-Podlowska A., (1989), *Leki współczesnej terapii*, 178, PZWL, Warszawa.
17. Domb A. J., Linden G., Polacheck I., Benita S., (1996), *J. Polym. Sci. Part A*, 34, 1229-1236.
18. Coro J., (1997), *J. Acta Farm. Bonaerense*, 16, 173-178.
19. Barrowcliffe M. P., Zanelli G. D., Ellison D., Jones J. G., (1990), *J. Appl. Physiol.*, 68, 341-347.
20. Atkinson T., Scawen M. D., Hammond P. M., (1987), *Biotechnology*, Ed. Rehm H. -J., Reed G., 7a, 303-306, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
21. Bosch T., (1996), *Artif. Organs*, 20, 332-335.
22. Modenese A., Baldo L., de Giorgi E., Geriotti F., Ferrero C. A., Carobene A., (1995), *G. Ital. Chim. Clin.*, 20, 205-211.
23. Mitsuya H., Looney D. J., Kuno S., Ueno R., Wong-Staal F., Broder S., (1988), *Science*, 24, 646-649.

24. Carre V., Mbemba E., Letourneur D., Jozefonvicz J., Gattegno L., (1995), *Biochim. Biophys. Acta*, 1243, 175-180.
25. Sediki N., Mbemba E., Letourneur D., Ylisastigui L., Benjouad A., Saffar L., Gluckman J., Jozefonvicz J., Gattegno L., (1997), *Biochim. Biophys. Acta*, 1362, 47-55.
26. Jellum E., Aaseth J., Eldjarn L., (1973), *Biochem. Pharmacol.*, 22, 1179-1188.
27. Kennedy J. F., (1974), *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 29, 305-405.
28. Marshall J. J., Rabinowitz M. L., (1975), *Arch. Biochem. Biophys.*, 167, 777-779.
29. Cunnington P. G., Jenkins S. N., Tam S., Wong J. T., (1981), *Biochem. J.*, 193, 361-366.
30. Schneider F., Reinfeld E., Thielecke K., (1971), *Zucker*, 24, 153-158.
31. Zhizhina R. G., Semenenko V. Z., Zharinov N. I., Krasnopir W. N., Artyukhova I. V., Vycherova S. P., (1987), *Sakh. Prom-st*, 2, 20-22.
32. Marsh P., Martin M., (1994), *Mikrobiologia jamy ustnej*, PWN, Warszawa.
33. Birkhed D., Rosell K.-G., Granath K., (1979), *Arch. Oral Biol.*, 24, 53-61.
34. Schilling K. M., Bowen W. H., (1992), *Infect. Immunol.*, 60, 284-295.
35. Rölla G., Scheie A. A., Ciardi J. E., (1985), *Scand. J. Dent. Res.*, 93, 105-111.
36. Cheng X., Ling S., Yang J., Zhang S., (1994), *Acta Microbiol. Sin.*, 34, 124-130.
37. Sawai T., Toriyama K., Yano K., (1974), *J. Biochem.*, 75, 105-112.
38. Walker G. J., Pulkownik A., (1974), *Carbohydr. Res.*, 29, 53-66.
39. Hutson D. H., Weigel H., (1963), *Biochem. J.*, 88, 588-591.
40. Ingelman B., (1948), *Acta Chem. Scand.*, 2, 803-812.
41. Torii M., Sakakibara K., Misaki A., Sawai T., (1976), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 70, 459-464.
42. Igarashi T., Yamamoto A., Goto N., (1992), *Microbiol. Immunol.*, 36, 969-976.
43. Russell R. R. B., Ferretti J. J., (1990), *J. Gen. Microbiol.*, 136, 803-810.
44. Tanzer J. M. i Freedman M. L., (1978), *Adv. Exp. Med. Biol.*, 107, 661-672.
45. Tanzer J. M., (1992), *Contemporary oral microbiology and immunology*, Eds. Slots J., Taubman M. A., 377-424, Mosby - Year Book, St. Louis.
46. Lawman P., Bleiweis A. S., (1991), *J. Bacteriol.*, 173, 7423-7428.
47. Giani C., Jeager E., Emeis C. C., (1980), *Zentralbl. Bacteriol. Parasiten. Infektion. und Hygiene*, 135, 92-100.
48. Webb E., Spencer-Martin I., (1983), *Can. J. Microbiol.*, 29, 1092-1095.
49. Zinchenko O. N., Lobanok A. G., Rozhkova Z. A., Shishlo V. I., (1989), *Microbiologiya*, 58, 571-575.
50. Koenig D., Day D., (1989), *Eur. J. Biochem.*, 183, 161-167.
51. Zinchenko O. N., Krivosheeva O. V., Lobanok A. G., (1993), *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 9, 153-155.
52. Kim D., Day D. F., (1995), *Lett. Appl. Microbiol.*, 20, 268-270.
53. Walker G. L., Pulkownik A., Morrey-Jones J. G., (1981), *J. Gen. Microbiol.*, 127, 201-208.
54. Nordström L., Hultin E., (1948), *Svensk Kem. Tid.*, 60, 283-284.
55. Chaiet L., Kempf A. J., Harman R., Weston R., Nollstadt K., Wolf F. J., (1970), *J. Appl. Microbiol.*, 20, 421-426.
56. Hiraoka N., Fukumoto J., Tsuru D., (1972), *J. Biochem.*, 71, 57-64.
57. Sugiura M., Ito A., Ogiso T., Kato K., Asano H., (1973), *Biochim. Biophys. Acta*, 309, 357-362.
58. Madhu i Prabhu K. A., (1984), *Enzyme Microb. Technol.*, 6, 217-220.
59. Hattori A., Ishibashi K., Minato S., (1981), *Agric. Biol. Chem.*, 45, 2409-2416.
60. Zinchenko O. N., Shishlo V. I., Krivosheeva O. V., Lobanok A. G., (1993), *Prikl. Biokhim. Microbiol.*, 29, 851-855.
61. Szczodrak J., Pleszczyńska M., Fiedurek J., (1994), *J. Ind. Microbiol.*, 13, 315-320.
62. Hiraoka N., Tsuji H., Fukumoto J., Yamamoto T., Tsuru D., (1973), *Int. J. Peptide Protein Res.*, 5, 161-169.
63. Galvez-Mariscal A., Lopez-Munguia A., (1991), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 36, 327-331.
64. Pleszczyńska M., Szczodrak J., Rogalski J., Fiedurek J., (1997), *Mycol. Res.*, 101, 69-72.
65. Garcia B., Margolles E., Roca H., Mateu D., Raices M., Gonzales M. E., Herrera L., Delgado J., (1996), *FEMS Microbiol. Lett.*, 143, 175-183.

66. Roca H., Garcia B., Rodriguez E., Mateu D., Coroas L., Cremata J., Garcia R., Pons T., Delgado J., (1996), *Yeast*, 12, 1187-1200.
67. Inkerman P. A., James G. P., (1976), *Proc. Queensl. Soc. Sugar Cane Technol.*, 43, 307-315.
68. Barfoed S., Mollgaard A., (1987), *Zuckerindustrie*, 112, 391-395.
69. Stoppok E., Buchholz K., (1994), *Zuckerindustrie*, 119, 476-481.
70. Martens J. S. H., Pastore G. M., Park Y. K., (1991), *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 11, 121-136.
71. Kubik C., Galas E., Sikora B., (1994), *Gaz. Cukr.*, 6, 102-105.
72. Lambrev N., Angelova S., Donkov M., Bazlekov H., (1990), *Khranit. Prom-st*, 39, 28-29.
73. Wynnter C. V. A., Galea C. F., Cox L. M., Dawson M. W., Patel B. K., Hamilton S., De Jersey J., Inkerman P. A., (1995), *J. Appl. Microbiol.*, 79, 203-212.
74. Madhu i Prabhu K. A., (1985), *Enzyme Microb. Technol.*, 7, 279-282.
75. Rogalski J., Szczodrak J., Pleszczyńska M., Fiedurek J., (1997), *J. Mol. Catalysis B: Enzymatic*, 3, 271-283.
76. Li Sui Fong J. C., Mbagu G. T., (1982), *Int. Sugar J.*, 84, 105-108.
77. Pelenc V., Lopez-Munguia A., Remaud M., Biton J., Michel J. M., Paul F., Monsan P., (1991), *Sci. Aliments*, 11, 465-476.
78. Fitzgerald R. J., Spinell D. M., Stoudt T. H., (1968), *Arch. Oral Biol.*, 13, 125-128.
79. Koga T., Inoue M., (1979), *Arch. Oral Biol.*, 24, 191-198.
80. Bowen W. H., (1968), *Brit. Dent. J.*, 124, 347-349.
81. Guggenheim B., König K. G., Mühlemann H. R., Regolati B., (1969), *Arch. Oral Biol.*, 14, 555-558.
82. Fitzgerald R. J., Fitzgerald D. B., Stoudt T. H., (1973), *Germfree research*, Ed. Heneghan J. B., 197-203, Academic Press, New York.
83. Poulsen S., Larson R. H., Senning R. S., (1978), *Scand. J. Dent. Res.*, 86, 231-236.
84. Lobene R. R., (1971), *J. Am. Dent. Assoc.*, 82, 132-135.
85. Guggenheim B., Haller R., (1972), *J. Dent. Res.*, 51, 394-402.
86. Kelstrup J., Holm-Pedersen P., Poulsen S., (1978), *Scand. J. Dent. Res.*, 86, 93-102.
87. Kikuchi Y., Minagawa T., Hirano M., Yazawa M., (1994), *Patent Jpn.* 08 612 542.
88. Kubo S., Kubota H., Ohnishi Y., Morita T., Matsuya T., Matsushiro A., (1993), *Infect. Immun.*, 61, 4375-4381.
89. Barrett J. F., Barrett T. A., Curtiss III R., (1987), *Infect. Immun.*, 55, 792-802.
90. Igarashi T., Yamamoto A., Goto N., (1995), *Microbiol. Immunol.*, 39, 853-860.
91. Jagusztyn-Krynicka K., (1992), *Post. Mikrobiol.*, 31, 257-271.
92. Mghir A. S., Cremieux A. C., Jambou R., Muffat-Joly M., Pocardalo J. J., Carbon C., (1994), *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38, 953-958.

Dextran and dextranases — microbial sources, properties and applications

Summary

Dextran is a bacterial polysaccharide composed almost exclusively of the monomeric unit α -1,6-glucopyranose linked mainly by α -1,6-bonds. Enzymatic hydrolysis of dextran is carried out with the enzyme dextranase. This paper is a review of world-wide literature concerning properties and production of dextran and dextranase. The important part of the article is the discussion about their significant role and real or potential applications in industry and medicine.

Key words:

dextran, production, dextranases, microbial sources, applications.

Adres do korespondencji:

Małgorzata Pleszczyńska, Zakład Mikrobiologii Przemysłowej, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-031 Lublin.