

ROLA I ZNACZENIE POLISACHARYDÓW SINIC W PRZYRODZIE I BIOTECHNOLOGII

Role of cyanobacterial polysaccharides in environment and biotechnology

Zbigniew LECHOWSKI, Jan BIAŁCZYK

Summary. As depending of their location polysaccharides of cyanobacteria can be divided into the following groups: (a) these contained in cells as the storage material (glycogen), (b) constituting the structural material of cell walls, (c) constituting the cell envelope, and (d) released to the aquatic environment. The two last sub-groups are exocellular polysaccharides. The results of current studies show the occurrence of pronounced divergences in the chemical composition of exocellular polysaccharides, depending on the species or even the strain. In the composition of this sub-group of polysaccharides ten monosaccharides belonging to hexoses, deoxyhexoses, pentoses, and acidic hexoses were found to occur. In some cases the occurrence of methyl sugars and amino sugars was determined. Another important feature that contributes to the chemical character of polysaccharides is the occurrence of polypeptide moiety or other non-saccharidic compounds such as organic (e.g., acetyl, pyruvyl, and succinyl groups) or inorganic ones (e.g., sulphate or phosphate groups and Ca^{2+} ion substituents). Most exocellular polysaccharides show an anionic nature due to the presence of acidic hexoses and/or other charged groups. Of the basic physical traits of polysaccharides are the high viscosity of water solutions, the capacity of gelation, elasticity, and the stability of water emulsions. Apart from the significant role (among other functions they constitute a physico-chemical barrier dividing cells from the environment, preventing their desiccation, and protecting them against the attack of pathogens) exocellular polysaccharides find a wide biotechnological use in numerous industries. They are used in food industry (e.g., in the production of a vegetal variety of gelatine, ice cream, or jellies), in pharmaceutical industry as a component of numerous drugs, in textile industry (for end-use finish), fat industry (for waste fat recovery), and cosmetic industry (in suspensions and emulsions). Moreover, the high biological activity of polysaccharides manifested as antimicrobial, antiviral, antioxidant, antimutagenic, anticancerogenic, and immunostimulating activity, opens new perspectives of their use in medicine.

Key words: composition of exocellular polysaccharides, cyanobacteria, potential application of cyanobacterial polysaccharides.

Dr hab. Zbigniew Lechowski, dr hab. Jan Białczyk, Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin, Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7, 30–387 Kraków

WSTĘP

Sinice są liczną, bardzo zwartą filogenetycznie jednostką taksonomiczną Gram-ujemnych prokariotów. Szacuje się, że są one organizmami bardzo starymi, a ich wiek ewolucyjny ocenia się na około 3,5 miliarda lat [10]. Należą one do fotoautotrofów, wymagających do wzrostu i rozwoju: światła, wody, nieorganicznych związków węgla i składników mineralnych [69]. Większość gatunków sinic przeprowadza proces fo-

tosyntezy podobnie jak rośliny wyższe z wydzielaniem tlenu [12, 19]. Gatunki żyjące w warunkach beztlenowych wykorzystują związki siarki stanowiące źródło elektronów w fazie jasnej fotosyntezy [17]. Środowisko życia sinic jest ogromnie zróżnicowane [117]. Występują one począwszy od obszarów obejmujących nisze o ekstremalnych warunkach temperatury i dostępności wody, tj. suchych-gorących lub suchych-arktycznych pustyń (np. *Chroococcistopsis* sp.) [21], do wód termalnych (np. *Synechococcus* sp.,

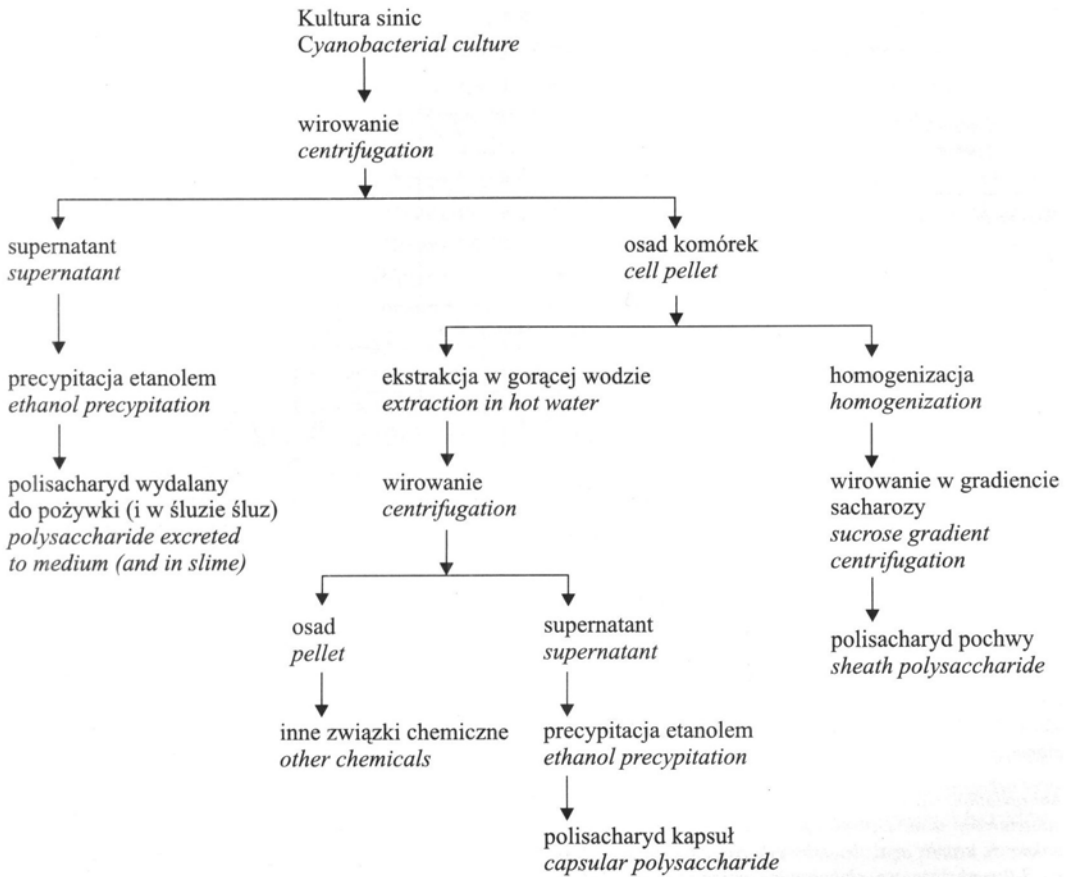
Mastigocladus laminosus) [69], gorących solanek [26], lodowatych jezior [73], alkalicznych jezior sodowych (np. *Arthrospira platensis*, *Cyanospira* sp.) [16] i otwartych oceanów zawierających w wodzie niskie stężenia związków mineralnych (np. *Trichodesmium* sp., *Microcoleus* sp.) [79, 81, 84]. Szeroki zasięg geograficzny siedlisk sinic związany jest z ogromną liczbą gatunków (obecnie sklasyfikowano około 2000 gatunków), charakteryzujących się bogactwem fizjologicznych przystosowań, umożliwiających tolerancję stresu środowiskowego [108]. Czynniki stresowymi są w ich przypadku, między innymi: wysoka lub niska temperatura, wysokie natężenie promieniowania UV, deficyt wody, wysokie stężenie siarczanów lub chlorków i wysokie natężenie promieniowania fotosyntezy (PAR). Rozwój specyficznych strategii metabolicznych umożliwił im przystosowanie się do wzrostu i przeżywania w trudnych warunkach stresowych. Jedną z nich jest wydalanie i akumulacja na zewnątrz komórek śluzowatych polimerów, głównie polisacharydów. Tworzą one na powierzchni komórek buforujące strefy o fundamentalnej roli w interakcji organizmów ze środowiskiem zewnętrznym [83, 106]. Polisacharydy sinic można podzielić [75] w zależności od miejsca ich występowania na następujące grupy: a) magazynowane jako materiał zapasowy wewnątrz komórki (glikogen) [115], b) jako elementy budulcowe ściany komórkowej, c) tworzące otoczkę komórki i d) wydalane bezpośrednio do środowiska wodnego. Dwie ostatnie grupy należą do polisacharydów zewnątrzkomórkowych, które różnią się – w zależności od gatunku – składem chemicznym, konsystencją i innymi właściwościami fizycznymi. W otoczce komórki sinicy wyróżnia się pochwę, kapsułę i śluz [41]. Pochwa definiowana jest jako cienka, jednorodna warstwa o homogennej fibrylnej strukturze, ściśle przylegająca do ściany komórki. Występuje ona w formie żelu o ograniczonej pojemności wodnej. Ciężar jej może stanowić od około 6% suchej masy komórki u *Gloeothece* PCC 6501 [110] do 38% u *Chlorogleopsis* PCC 6912 [101]. Kapsuła u sinic zbudowana jest z grubych i śluzowacjących warstw polisacharydów,

liczno otaczających pochwę, często o określonej, złożonej ultrastrukturze i wyraźnie zarysowanym kształcie. Struktura ta podlega dynamicznym zmianom polegającym na wydalaniu przez komórkę nowych cząsteczek polisacharydów i równoczesnym rozpuszczaniu części z nich w otaczającym środowisku wodnym [9, 25]. Terminem śluz określa się najbardziej zewnętrzną warstwę polisacharydów, o półpłynnej konsystencji, często odrywającą się od komórki i tworzącą brzeżną, dyfundującą warstwę [105]. Śluz jest rodzajem żelu o wysokim stopniu rozpuszczalności w wodzie, a jako swoisty roztwór koloidowy nie wykazuje wyraźnej struktury. Produkcja śluzu przez sinice może czasem osiągać niezwykle wysokie wartości np. u *Nostoc calcicola* 79WA01 [35] stanowi nawet około 70% całości syntetyzowanej biomasy komórki. Spektakularnym przykładem jest szczep *Cyanospira capsulata* ATCC 43193 [36], żyjący w wodzie jeziora Magadi (Kenia) zawierającej wysokie stężenie sody, który w warunkach eksperymentalnych, niezależnie od fazy wzrostu kultury, produkował w ciągu doby i wydalal do środowiska gęste, śluzowate polisacharydy w ilości około 1 g dcm⁻³ pożywki.

Akumulowane w postaci różnych form strukturalnych polisacharydy, stowarzyszone z zewnętrzną powierzchnią komórki, stanowią dla niej swoistą barierę ochroną przed niekorzystnym oddziaływaniem różnego rodzaju czynników środowiskowych [93].

Wiele gatunków sinic wydalają bezpośrednio do środowiska, z różną intensywnością, rozpuszczalne w wodzie polisacharydy. Proces ten może prowadzić do zmiany fizycznych właściwości wody poprzez np. wzrost jej lepkości [9].

Począwszy od połowy ubiegłego wieku prowadzono intensywne badania nad budową polisacharydów wydalanych do otoczenia przez komórki sinic. Szczegółowe badania fizykochemicznych właściwości polisacharydów objęły jednak zaledwie około 70 gatunków i szczepów sinic [25]. Większość dostępnych w literaturze informacji opisuje właściwości polisacharydów produkowanych przez sinice należące do takich rzędów, jak: *Chroococcales* [78, 80, 104, 109], *Oscillatoriales* [7, 33, 43, 65] i *Nostocales* [34, 35,



Ryc. 1. Schemat procedur ekstrakcji polisacharydów sinic (wg [9], zmodyfikowane).

Fig. 1. Schematic of extraction procedure of the cyanobacterial polysaccharides (after [9], modified).

37, 55, 67, 112]. W rzędzie *Stigonematales* badania te przeprowadzono wyłącznie na trzech gatunkach (*Chlorogleopsis* sp. PCC 6912, *Frischerella* sp. PCC 7414, *Mastigocladus laminosus*) [44, 69, 100, 101]. Brak jest natomiast jakichkolwiek informacji dotyczących własności polisacharydów produkowanych przez gatunki należące do rzędu *Pleurocapsulares*.

W ostatniej dekadzie XX wieku podjęto intensywne studia nad własnościami polisacharydów wydalanych z komórek sinic. Niemniej jednak zasób wiedzy jakim dysponujemy w tym zakresie, w porównaniu do opisanych własności polisacharydów uzyskiwanych z innych organizmów, w tym glonów i bakterii, jest nadal bardzo skromny.

Powodem wzrostu zainteresowania tą grupą związków jest fakt, że oprócz istotnej roli biologicznej, polisacharydy produkowane przez sinice mają również duże znaczenie biotechnologiczne. Ich specyficzne własności fizykochemiczne, odmienne od poznanych u roślin wyższych i glonów, jak również łatwość pozyskiwania tych związków z hodowli sinic w kulturach wodnych, przesądziły o ich atrakcyjności dla różnych gałęzi gospodarki [57]. Dodatkowo ich wysoka aktywność biologiczna, potwierdzona w badaniach doświadczalnych, otwiera nowe perspektywy szerokiego zastosowania tych związków w medycynie [29, 52, 66].

Należy również zaznaczyć, że niektóre gatunki sinic produkują metabolity wtórne będące

Tabela 1. Skład monosacharydowy polisacharydów wydanych przez sinice.

Table 1. The monosaccharides composition of the polysaccharides excreted by cyanobacteria.

Gatunek <i>Species</i>	Monosacharydy (stosunek molarny) <i>Monosaccharides (molar ratios)</i>												Literatura <i>References</i>
	Ar	Fr	Ga	Gl	Ks	Ma	Ra	Ry	GaK	GIK	UrK	I	
<i>Anabaena cylindrica</i>	–	śląd	1,0	8,7	4,7	4,7	–	–	–	–	–	–	28
<i>Anabaena flos aquae</i> A37	–	–	–	88,0	39,0	–	–	3,0	–	1,0	–	–	67
<i>Arthrospira platensis</i>	–	0,7	2,7	2,0	1,3	śląd	0,3	–	+	+	40,0	a	33
<i>Cyanothece sp. PE 14</i>	6,1	0,2	–	0,5	–	0,3	0,1	–	+	+	21,7	–	25
<i>Nostoc commune</i> UTEX 584	1,6	1,7	6,5	2,0	2,8	1,3	1,0	–	4,0	6,7	–	–	35
<i>Oscillatoria amphibia</i> PCC 7105	śląd	śląd	16,0	33,0	12,3	27,7	4,5	–	–	–	6,7	b	43
<i>Phormidium sp. J-1</i>	–	–	0,5	–	–	2,0	1,0	–	–	–	34,0	–	4
<i>Synechocystis sp.</i> PCC 6714	5,5	2,1	0,5	34,8	2,8	3,8	2,8	–	–	–	16,7	c	77

Skróty: Ar-arabinoza, Fr-fruktoza, Ga-galaktoza, Gl-glukoza, Ks-ksyloza, Ma-mannoza, Ra-ramnoza, Ry-ryboza, GaK-kwas galakturonowy, GIK-kwas glukuronowy, UrK-kwas uronowy, I-inne monosacharydy: a – nieokreślony cukier metylowany i kwas uronowy, b – deoksyheksoza, 6-deoksy-2-0-metyloheksoza, 2-0-metyloheksoza, 3-0-metyloheksoza, glukozamina, c – 3-0-metylopentozą, glukozaminą, galaktozaminą.

Abbreviations: Ar-arabinose, Fr-fructose, Ga-galactose, Gl-glucose, Ks-xylose, Ma-mannose, Ra-ramnose, Ry-ribose, GaK-galacturonic acid, GIK-glucuronic acid, UrK-uronic acid, I-other monosaccharides: a – unknown methyl sugar and unknown uronic acid, b – deoxyhexose, 6-deoksy-2-0-methylhexose, 2-0-methylhexose, 3-0-methylhexose, glucosamine, c – 3-0-methylpentose, glukosamine, galactosamine, śład – trace.

najbardziej toksycznymi substancjami syntetyzowanymi przez organizmy żywe. Niskie dawki toksyn sinicowych (piko-i nanogramowe) przyjmowane wielokrotnie z wodą przez ludzi mogą prowadzić do rozwoju wielu groźnych chorób. Przyjmując za kryteria rodzaj uszkodzonych tkanek, narządów oraz mechanizm działania, toksyny sinicowe dzieli się na kilka grup: neurotoksyny, hepatotoksyny, dermatotoksyny, cytotoxyny i inne.

BUDOWA CHEMICZNA

Analiza budowy chemicznej polisacharydów wchodzących w skład struktur zlokalizowanych na zewnątrz komórek sinic sprawia wiele trudności metodycznych ze względu na ich złożoną strukturę i wysoką stabilność wiązań glikozydowych. Złożoność zewnątrzkomórkowego

wego kompleksu polisacharydów jest spowodowana występowaniem wielu rodzajów monosacharydów wchodzących w skład polimerów, różnorodnością występujących w nich wiązań chemicznych, a dodatkowo obecnością w tych strukturach elementów niecukrowych. Ponieważ wszystkie zewnątrzkomórkowe struktury zbudowane głównie z polisacharydów (pochwa, kapsuła, śluz i część wydanych do otaczającego środowiska) mogą się wzajemnie przenikać, to ewentualne przeprowadzenie precyzyjnych analiz musi być zawsze poprzedzone rozdzielaniem poszczególnych frakcji i ich niezwykle dokładnym oczyszczeniem. Stosowane w tym celu procedury przedstawiono na Ryc. 1.

Większość dostępnych obecnie rezultatów badań dotyczy składu chemicznego polisacharydów, zwłaszcza uwalnianych do środowiska wodnego. Sporadycznie przeprowadzano bada-

nia budowy chemicznej polisacharydów wchodzących w skład pochwy, kapsuły czy śluzu. Uzyskane dotychczas wyniki badań wskazują na występowanie dużych rozbieżności w składzie zewnątrzkomórkowych polisacharydów sinic, który zależy od gatunku, a nawet szczepu [9, 25, 69] (porównawcze zestawienie zamieszczono w Tabeli 1). Niemniej jednak przeprowadzona charakterystyka budowy chemicznej pozwala na sformułowanie pewnych ogólnych prawidłowości. W składzie polisacharydów wykazano obecność dziesięciu różnych cukrów prostych. Należą one do czterech grup: heksoz (glukoza, galaktoza, mannoza), deoksyheksoz (fruktoza, ramnoza), pentoz (ryboza, ksyloza, arabinoza) i kwaśnych heksoz (kwas galakturonowy i kwas glukuronowy). W kilku przypadkach stwierdzono również obecność innych monosacharydów, takich jak: metylowane monosacharydy (3-0-metylopentoza, 3-0-metyloheksoza, 4-0-metyloheksoza), aminocukry (N-acetylo-glukozosamina, galaktozamina) oraz inne rzadko występujące cukry, między innymi 4-0-(1-karboxyetylo)mannoza [34, 42, 77, 109].

Spśród zidentyfikowanych monosacharydów najpowszechniej występowała w polimerach glukoza (w 90% polisacharydów), a w dalszej kolejności galaktoza, mannoza i ramnoza (w 80–85% polisacharydów). W przeważającej liczbie tych polisacharydów ilościowo dominującym monosacharydem była jednak glukoza. Wśród polisacharydów wykazano takie, w których monosacharydy: arabinoza, galaktoza lub fruktoza występowały w większych od glukozy ilościach. Udział rybozy stwierdzono u około 9% analizowanych dotychczas polisacharydów. Kwaśne monosacharydy, nadające cząsteczce polimeru formę anionową, występowały u prawie wszystkich przebadanych do tej pory polisacharydów pochodzenia sinicowego. Równoczesna obecność kwasów galakturonowego i glukuronowego dotyczy około połowy tych związków, a w pozostałych przypadkach występował tylko jeden z nich [9, 25, 69]. Zawartość kwasów uronowych w polisacharydach sinic stanowi przeciętnie od 20% do 30% ich suchej masy, ale u *Microcystis flos-aquae* ilość ta osiągała wartość nawet do 83% ogólnego składu [7, 8, 9, 80].

Polisacharydy sinic klasyfikowane jako zewnątrzkomórkowe wykazują pewne cechy odróżniające je od produkowanych przez inne mikroorganizmy, a w szczególności: a) większość z nich występuje w formie anionowej; w skład tych związków wchodzi dwa różne kwasy uronowe, co stanowi niezwykłą rzadkość w przypadku podobnych polisacharydów syntetyzowanych przez inne mikroorganizmy [107]; b) w budowie ich cząsteczki występują jedna lub dwie różne pentozy, których obecności nie wykazano w polisacharydach produkowanych przez inne prokarioty [107]; c) w około 80% są kompleksowymi związkami złożonymi z sześciu lub większej liczby cząsteczek monosacharydów [9, 25, 69]. Cecha ta odróżnia je od polisacharydów syntetyzowanych przez bakterie i jednokomórkowe zielone glony, w których liczba monomerów w cząsteczce wynosi zazwyczaj cztery lub mniej [9]. Przypuszcza się, że duża liczba monomerów wchodzących w skład cząsteczki polisacharydów sinic jest skorelowana z wiekiem ewolucyjnym tej grupy. Painter [75] sugerował, że proces ewolucji prowadził stopniowo do ograniczenia liczby monomerów występujących w cząsteczkach polisacharydów. Polisacharydy syntetyzowane np. przez *Arthrospira platensis* [33] i *Mastigocladus laminosus* [69] zawierały monomery o powtarzającym się składzie 15 jednostek monosacharydów, a u *Cyanospira capsulata* podobny monomer składa się z 8–10 monosacharydów [40]. Liczba różnych monosacharydów wchodzących w skład cząsteczki polisacharydu sinic oraz dodatkowo kwaśnych lub neutralnych oligosacharydów, stanowi o niezwykłej złożoności tych związków [9, 44].

Ograniczony zasób informacji dotyczących budowy chemicznej polisacharydów występujących w pochwach, kapsułach i śluzach sinic nie pozwala na pełną identyfikację różnic ich własności, w porównaniu z cechami polisacharydów wydalanych bezpośrednio do środowiska [9, 25, 69]. Dodatkowe trudności interpretacyjne sprawia fakt, że wydalone przez sinice do środowiska zewnętrznego polisacharydy są bardzo często wzbogacone przez część rozpuszczonych polisacharydów, pochodzących ze śluzu oraz śluzowacjących zewnętrznych warstw kapsuł.

Wskazuje na to: a) podobny skład monomerów występujących w polisacharydach kapsuł oraz rozpuszczonych w otaczającym środowisku wodnym, a ponadto obydwa rodzaje polisacharydów posiadają podobną masę cząsteczkową [27, 42, 112] i b) utrzymywanie się stałej grubości kapsuł niezależnie od fazy wzrostu i warunków zewnętrznych środowiska. Ta ostatnia cecha jest specyficzna dla sinic, ponieważ u eukariotycznych jednokomórkowych glonów, np. u krasnorostów *Porphyridium aeruginum* i *Rhodella reticulata* grubość kapsuły charakteryzowała się przyrostem proporcjonalnym do wieku kultury [27, 90].

Porównanie obydwu rodzajów sinicowych polisacharydów jako elementów strukturalnych i wydalanych do środowiska jest utrudnione także z tego powodu, że większość dotychczas przeprowadzonych analiz składu chemicznego dotyczyła polisacharydów syntetyzowanych przez różne gatunki sinic. Rezultaty sporadycznie przeprowadzonych analiz chemicznych poszczególnych separowanych elementów strukturalnych sinicowej otoczki (wykonanych u tego samego gatunku) prowadzą do wniosku, że są one zbudowane z podobnych monosacharydów i wykazują podobny plan budowy. Jednostkowe informacje wskazują również na częste występowanie w nich zwiększonej liczby wolnych reszt: 0-metylowej, 0-acetylowej i siarczanowej, w porównaniu do polisacharydów wydalanych do otoczenia [110].

Określenie składu chemicznego polisacharydów występujących w otaczających komórki sinic strukturach utrudnia również fakt stwierdzenia zmian w budowie kompleksów związanych z fazą wzrostu komórek, np. u szczepów *Synechocystis sp.* i *Arthrospira platensis* PCC 8005 [33, 77], a nawet indukowania ich poprzez modyfikację składu mineralnego pożywki (np. u *Anabaena cylindrica*) [22, 25, 55, 110].

Szczególne podkreślenia wymagają również ograniczenia metodyczne, wynikające ze stosowanych technik hydrolizy w ilościowej i jakościowej analizie polisacharydów. Dotyczy to zwłaszcza metod hydrolizy tych związków w obecności silnych kwasów wywołujących degradację pentoz. Stwierdzone doświadczalnie

zagrożenia wymagają niezwykle ostrożnego indywidualnego określenia warunków hydrolizy dla każdego rodzaju polisacharydu. Podobnej ostrożności wymagają również analizy kwasów uronowych. Występujące w nich grupy karboksylowe stabilizują wiązania glikozydowe łączące monosacharydy, co w konsekwencji może stać się przyczyną ograniczenia działania kwasów i ostatecznie niekompletnej hydrolizy badanych związków [60, 88]. Ponadto, kwasy uronowe mogą również same łatwo ulegać degradacji [64] lub laktonizacji [60].

NIKTÓRE WŁASNOŚCI FIZYKO-CHEMICZNE

Stan zaawansowania badań powoduje, że próba jednoznacznego określania występujących korelacji pomiędzy budową chemiczną i własnościami fizycznymi polisacharydów sinic jest szczególnie trudna. Wynika to z braku wiedzy o wtórnej i trzeciorzędowej strukturze tych cząsteczek. O wspomnianych zależnościach wnioski wyciągane są głównie w oparciu o zmiany reakcji polisacharydów w kontrolowanych warunkach środowiska zewnętrznego i dedukcyjne wiązania rezultatów reakcji z ich budową chemiczną. Bardziej szczegółowych, pomimo to niepełnych informacji, dostarczyły badania własności fizycznych zaledwie 10% spośród analizowanych dotychczas zewnątrzkomórkowych polisacharydów sinic [25]. Do ich istotnych podstawowych własności fizycznych należą między innymi: wysoka lepkość wodnych roztworów, zdolność do tworzenia żeli, własności elastyczne i stabilność wodnych emulsji. Stopień lepkości i własności elastyczne polisacharydów są skorelowane z ich budową chemiczną oraz z ich masą cząsteczkową [68, 103]. Lepkość wodnych roztworów polisacharydów i ich rozciągliwość wzrastały wraz z podwyższeniem masy cząsteczkowej. Najniższą masę cząsteczkową wykazywały zewnątrzkomórkowe polisacharydy syntetyzowane przez *Arthrospira platensis* (81–98 kDa) [111] i *Oscillatoria sp.* (200 kDa) [8]. W przypadku kilku innych gatunków, u których określono masę cząsteczkową (np. *Chroococcus minutus* B 41.79, *Phormidium sp. J-1*, *Anabaena circularis* PCC 6720, *Cyano-*

spira capsulata ATCC 43193 i *Nostoc insulare*) stwierdzono, że osiągała ona wartość w zakresie od 1200 do 1900 kDa [4, 13, 113].

Polisacharydy te zawierają w cząsteczkach inne niecukrowe składniki organiczne (takie jak białka oraz reszty: acetylowe, pirogronianowe i bursztynianowe) i/lub nieorganiczne (reszty siarczanowe, fosforanowe) [107]. Udział białek w suchej masie zewnątrzkomórkowych polisacharydów wynosi od 0,6% u *Anabaena sp. C5* [37] do 20% w przypadku *Synechocystis sp. PCC 6714* i 40% u *Synechocystis PCC 6803* [76, 77]. Obecność składnika białkowego wykazano prawie u wszystkich badanych dotychczas zewnątrz-komórkowych polisacharydów sinic. Pomimo powszechności występowania białek w tych związkach, jedynie w polisacharydach wydalanych przez *Cyanospira capsulata* [63] i *Nostoc calcicola* [35] określono ich skład aminokwasowy. Wykazano, że w skład tych białek wchodzi następujące aminokwasy: glicyna, alana, walina, leucyna, izoleucyna i fenyloalana [35]. Stosunkowo wysoka zawartość białka w tych polisacharydach mogła sugerować, że pochodzą one z ewentualnych zanieczyszczeń pozostałych po lizie całych komórek sinic. Jednak wiele dalszych wyników badań potwierdziło, że azot aminowy utrzymywał się na stałym (1–3% suchej masy) poziomie również wówczas, gdy badane frakcje polisacharydów poddawano powtórnemu oczyszczaniu. Wyniki te sugerują, że białko jest stałym elementem budulcowym struktur polisacharydowych. Całkowite usunięcie składnika białkowego z tych polimerów redukowało zupełnie ich lepkość, śluzowatość, przychepność do podłoża i zdolność do tworzenia żelu [1, 107]. Ponadto, obserwacje dokonane na zewnątrzkomórkowych polisacharydach produkowanych przez *Nostoc sp. 259B* wskazywały, że usunięcie z nich składnika białkowego uniemożliwiało zdolność przytwierdzania się sinicy do korzeni pszenicy [25].

U ogromnej większości zewnątrzkomórkowych polisacharydów sinic wykazano występowanie komponentów organicznych i nieorganicznych. Część z nich wykazuje ładunek elektryczny, co umożliwia wiązanie przez polisacharydy jonów metali znajdujących się w wodnym

roztworze [25]. Ilość wiązanych jonów zależy od kilku czynników, a do najważniejszych z nich należą gęstość i sposób rozmieszczenia ładunków w obrębie cząsteczki polisacharydów oraz natura elektrochemiczna jonu metalu. Przeszrenne rozmieszczenie ładunków elektrycznych jest uzależnione od składu chemicznego polisacharydu, w tym od zawartości kwasów uronowych, reszt pirogronianowych, karbonylowych, karboksylowych, hydrokarboksylowych, hydroksylowych, siarczanowych i innych [43]. Empirycznie wykazano, że usunięcie reszt pirogronianowych ograniczało zdolność wiązania jonów metali od 22% do 46% przez tak zmodyfikowaną cząsteczkę polimeru [102]. W suchej masie polisacharydów ilość oznaczonych jonów Ca^{2+} stanowiła od 0,1% do 0,15%. W zmodyfikowanej cząsteczce (bez reszt pirogronianowych) nie stwierdzano obecności jonów Ca^{2+} . Natomiast zawartość jonów Na^{+} ulegała w tych warunkach obniżeniu o około 50% [107]. Obecność w polisacharydzie grup obdarzonych ładunkiem elektrycznym jest również czynnikiem warunkującym stopień jego rozpuszczalności w wodzie. Pozbawienie polimerów wymienionych wyżej grup zmienia ich zdolność do rozpuszczania się w wodzie, ograniczając ją w znacznym stopniu lub czyniąc całkowicie nierozpuszczalnymi [107]. W ostatnich latach wykazano, że w skład polisacharydów sinicowych wchodzi również reszty siarczanowe [25]. Wcześniej przeważał pogląd, że reszty te występują tylko w polisacharydach syntetyzowanych przez eukariotyczne glony. Przypuszcza się, że obecność w polisacharydach grup zawierających siarkę stymuluje zdolność do tworzenia żeli. Usunięcie ich z cząsteczek polisacharydów ograniczało te własności o około 80% [69]. Zewnątrzkomórkowe polisacharydy sinic są produktami higroskopijnymi i wykazują zdolność do wiązania i zatrzymywania wody. Podwyższenie w cząsteczce polisacharydu liczby reszt zawierających ładunek elektryczny wzmacnia jego zdolności hydratacyjne [92] i możliwości utrzymywania wody. Cecha ta ma szczególne znaczenie w ochronie komórek sinic przed wysuszeniem [24, 112]. O zdolności zatrzymywania wody przez te wyjątkowe związki prze-

konuje przykład polisacharydu bakteryjnego (o dużej zawartości kwasu hialouronowego), którego 1 g suchej masy może wiązać i utrzymywać około 6 dm³ wody [107]. Polisachardy o tych własnościach mogą mieć szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, a w szczególności w przemyśle kosmetycznym. Interesujące zależności występujące pomiędzy strukturą chemiczną, masą cząsteczkową i zdolnością wiązania wody przez różne polisacharydy sinicowe nie zostały dotychczas wystarczająco poznane i długo jeszcze będą stanowić atrakcyjny problem badawczy.

CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA NATĘŻENIE SYNTEZY I PROCESY WYDALANIA POLISACHARYDÓW NA ZEWNĄTRZ KOMÓRKI

Intensywność syntezy i ilość wydalanych do środowiska polisacharydów przez sinice mogą być uzależnione od wieku i fazy wzrostu kultury. Wzrost natężenia procesów syntezy i wydalania polisacharydów u *Nostoc* sp. wykazano w kulturach młodych [47]. W innych przypadkach, takie gatunki jak *Cyanothece BH 68K* [91], *Nostoc calcicola* [35], *Phormidium* sp. *J-1* [31, 32], *Anabaena flos-aquae* [34, 43] i *Anabaena cylindrica 10C* [55], wzmózoną produkcję tych związków osiągały w późnej fazie wzrostu wykładniczego. Sinica *Cyanospira capsulata* charakteryzowała się jednak niezależną od fazy wzrostu, niezmienną kinetyką wydalania polisacharydów [112]. Przedstawione przykłady sugerują, że nie tylko gatunki, ale nawet szczepy mogą cechować się indywidualnymi różnicami w intensywności syntezy polisacharydów w zależności od fazy ich wzrostu. Ilość syntetyzowanych i wydalanych do pożywki polisacharydów przez kultury sinic jest różna i waha się w ciągu doby od 1,4 mg dm⁻³ u *Nostoc* sp. *259B* [37] do 116–144 mg dm⁻³ u *Cyanospira capsulata* [23]. Natężenie produkcji polisacharydów przez *Cyanospira capsulata* jest porównywalne do wartości syntezy polimerów osiąganą przez fotosyntetyzujące mikroorganizmy. Dobowa produkcja polisacharydów przez jednokomórkowy krasnorost *Porphyridium* sp. wynosiła do 133 mg dm⁻³ [1], a np. wiciowiec *Botryococcus brauni* synte-

tyzuje 130–140 mgdm⁻³ [61]. Wykazano, że u *Anabaena turulosa*, *Scytonema hofmanni* i *Nostoc linckia* ilość bezpośrednio wydalanych do środowiska polisacharydów była niższa o około 6–7 razy w porównaniu z ilością uwalnianych śluzów [42, 71]. Produkcja i wydalanie polisacharydów przez fotosyntetyzujące mikroorganizmy jest względnie niska w porównaniu do analogicznych procesów prowadzonych przez mikroorganizmy heterotroficzne. Dobrym przykładem jest wykorzystywana do przemysłowej produkcji specyficznego typu polisacharydów (gumy ksantanowej) bakteria *Xanthomonas campestris*, która może wydalać w ciągu doby od 7 do 10 g tych polimerów, w przeliczeniu na określoną liczbę organizmów rosnących w dm³ pożywki [58]. Pomimo niższej produkcji polisacharydów, sinice wykazują jednak pewną przewagę nad organizmami heterotroficznymi. Wynika ona głównie z mniejszych wymagań środowiskowych tych organizmów, co równocześnie obniża koszty ekonomiczne prowadzenia hodowli. Związane jest to z następującymi faktami: a) jako fotoautotrofy wykorzystują tanie i łatwo odnawialne substraty, a ponadto niektóre z nich są zdolne do wiązania azotu atmosferycznego; b) wiele szczepów sinic charakteryzuje się stabilnym wzrostem w słonych lub zanieczyszczonych wodach; c) dodatkowy efekt ekonomiczny może być uzyskiwany również poprzez równoczesne wykorzystywanie innych produktów przemian metabolicznych (np. diterpenoidów, fikocyjaniny-C) [68, 85]; d) charakteryzują się one także wysoką wydajnością w produkcji biomasy [45, 69]. Wykazano np., że w okresie letnim z m² powierzchni niektórych zbiorników wodnych zbierano około 12 kg biomasy sinic (tj. około 120 ton ha⁻¹) [70]. Tak intensywna produkcja biomasy jest użyteczna dla celów biotechnologicznych, z drugiej jednak strony może stanowić potencjalne źródło zanieczyszczenia toksynami środowiska wodnego.

Kinetyka syntezy polisacharydów może być regulowana u niektórych gatunków sinic poprzez modyfikację zawartości składników mineralnych w pożywkach. U gatunków, które nie wykazują zdolności wiązania azotu atmosferycznego, ograniczenie dostępności tego pier-

wiastka może prowadzić do intensyfikacji wydalania polisacharydów do środowiska [1, 22, 55, 110]. Przypuszcza się, że jest to związane z podwyższeniem stosunku C/N, a wydalanie polisacharydów na zewnątrz komórki sinicy umożliwiła pozbycie się przez te organizmy nadmiaru związków węgla [20].

Promujący wpływ na poziom syntezy i wydalania polisacharydowych polimerów wywiera wzrost natężenia PAR [69]. Efekt ten wiąże się zazwyczaj z powstawaniem zwiększonej ilości szkieletów węglowych (pierwotnych produktów fotosyntezy), które nie mogą być bezpośrednio wykorzystane do syntetyzowanych w komórce związków organicznych. Stopień dostępności pierwiastków mineralnych takich jak: magnezu, fosforu i siarki wywierał również istotny wpływ na proces wydalania polisacharydów. Zmiana w zawartości jonów Ca^{2+} lub K^{+} w składzie pożywki nie wywierała znaczącego wpływu na charakteryzowany proces [23, 69]. Dodanie do pożywki związków organicznych, takich jak np. glukozy, octanów, cytrynianów i innych, obniżało produkcję polisacharydów [55]. Uzyskany rezultat może ewentualnie wiązać z tym, że sinice cechują się bardzo zwartym szlakiem metabolicznym. Wprowadzone do środowiska związki organiczne mogą nie być włączane do szlaku przemian metabolicznych, a w takim przypadku mogą nawet stawać się związkami toksycznymi dla komórek sinic. Wiele informacji wskazuje, że podwyższenie produkcji polisacharydów przez kultury sinic może zależeć nie tylko od zewnętrznych warunków środowiskowych, ale również od specyficznych genetycznych własności gatunku, a nawet szczepu.

BIOLOGICZNA ROLA ZEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH POLISACHARYDÓW SINIC

Syntetyzowane i wydalone na zewnątrz komórki sinic polisacharydy odgrywają niezwykle istotną rolę w interakcji ze środowiskiem. Podstawową funkcją tych polisacharydów, szczególnie wchodzących w skład pochwy i kapsuły, jest utworzenie bariery ochraniającej komórki przed niekorzystnym oddziaływaniem czynni-

ków zewnętrznych. Bariera ta może być dodatkowo wzmacniana przez tworzenie graniczących bezpośrednio ze środowiskiem warstw polisacharydów, stanowiących rodzaj szklistych powłok [18]. Ma to szczególne znaczenie dla gatunków lądowych, zwłaszcza w przypadkach ograniczonej dostępności wody. Otoczki komórek sinic zawierają w swym składzie, oprócz polisacharydów, również pewne ilości białek i barwników. Wskazuje to na wysoki stopień kompleksowości budowy tych struktur determinującej ich własności fizyczne. Przyjmuje się, że pochwa i kapsuła mogą zabezpieczać sinice przed infekcją grzybów, bakterii i wirusów. Sugeruje się także, że struktury te maskują produkowane przez sinice przeciwciała, utrudniając możliwość ich rozpoznawania przez pasożytnicze mikroorganizmy. Stanowi to swoiste zabezpieczenie komórek sinic przed ewentualną lizą ściany komórkowej, poprzedzającą zazwyczaj atak patogenów [110]. Złożona struktura fizykochemiczna i/lub wysoka lepkość otaczających sinice otoczek jest silną barierą fizyczną, trudną do pokonania także przez pierwotniaki [18]. Warstwy polisacharydów w tych strukturach mogą podlegać dodatkowo impregnacji poprzez wysycenie jonami wapnia lub krzemu [47], a ponadto produkowanymi przez sinice toksynami [110]. Ogranicza to lub całkowicie zabezpiecza je przed zjadaniem przez skorupiaki, ślimaki, owady i inne organizmy zwierzęce.

Wiele spośród przeprowadzonych badań koncentrowano na określeniu zdolności sinic do przeżywania w warunkach długotrwałej suszy. Jak wykazano [49, 50], wydalani do otoczenia przez *Nostoc commune* glukan tworzył w otoczeniu kolonii liczne warstwy o zróżnicowanej strukturze morfologicznej, o wysokiej lepkości oraz silnych własnościach higroskopijnych. U aerofitycznych gatunków sinic powstająca z glukanu lub innych polisacharydów warstwowo otoczka może gromadzić znacznie więcej wody, niż zawiera jej najbliższe otoczenie wewnętrzne [118]. Gatunki sinic żyjące na piaszczystych wydmach Pustyni Négar (Izrael) mogły przeżywać wiele miesięcy na obszarach pozbawionych opadów deszczu, korzystając jedynie z zapasów wody pochodzącej z porannej rosy pochłanianej

i magazynowanej w polisacharydowych otoczkach [65]. Dokładne badania przeprowadzone na *Nostoc commune* wykazały, że gatunek ten charakteryzuje się dużą tolerancją na odwodnienie i może przeżywać nawet przy potencjale wody osiagającym w środowisku zewnętrznym wartość – 400 MPa (zero procent wilgotności względnej), utrzymującym się nawet przez stulecia [83]. W odwodnionych komórkach sinic nie obserwowano obkurczania się protoplastu, jak również innych zmian strukturalnych. W połączeniu z obserwowanymi w nich wewnątrzkomórkowymi procesami, prowadzącymi do podwyższania stężenia niektórych oligosacharydów (trehalozy i/lub sacharozy), dostosowującymi wartość wewnątrzkomórkowego potencjału osmotycznego do warunków otoczenia [46] oraz uruchamianiem syntezy białek stresowych (Wsp) [47], polisacharydy otoczki stanowią istotny element składowy mechanizmu regulującego zdolność przeżywania tych organizmów w warunkach stresu wodnego. Znaczenie i funkcja zewnątrzkomórkowych polisacharydowych struktur w warunkach suszy polega na: a) hamowaniu fuzji błon komórkowych [48]; b) tworzeniu strukturalnego i molekularnego rusztowania, które może buforować zachodzące w tych warunkach zmiany biofizyczne, biochemiczne i fizjologiczne; procesom tym towarzyszą szybko zachodzące zmiany własności fizycznych w strukturze polisacharydów (np. zmiana formy strukturalnej otoczki z silnie żelifikowanej aż do wysuszonej skorupy lub szklistej warstwy); c) gromadzeniu rozpuszczalnych w wodzie lub lipidach barwników absorbujących szkodliwe biologicznie promieniowanie UV, ochraniające komórki sinic przed fotodegradacją [49]; d) akumulowaniu wydzielanych białek mających kwaśny charakter, o masie cząsteczkowej 32, 37 i 39 kDa [82]. Ilościowo stanowią one większą część spośród wszystkich występujących w otoczce białek [98]. Są one chemicznymi izoformami zawierającymi znaczne ilości hydroksylowych aminokwasów (seryny, treoniny i tyrozyny) i charakteryzują się bardzo wysoką stabilnością. Działanie ich wyraża się hamowaniem aktywności hydrolazy 1,4–D ksylanoksylationowej (E. C.3.2.18). Może to wpływać

na zakres ilościowego i jakościowego składu chemicznego polisacharydów, stanowiących swoisty rodzaj cegiełek budulcowych otoczek sinicowych w warunkach stresu wodnego.

Polisacharydy zlokalizowane w zewnętrznych warstwach otoczki komórek sinic mogą w warunkach suszy przekształcać się w cienką szklistą warstwę [11], utrudniając lub całkowicie ograniczając ewaporację wody z warstw głębiej położonych. Grubość warstwy szklistej jest uzależniona od zawartości wody w środowisku zewnętrznym, a także od długości trwania okresu suszy [97]. Wytworzona warstwa szklista może również ograniczać lub całkowicie hamować reakcje chemiczne zachodzące podczas molekularnej dyfuzji [62], w tym wymianę gazową [15, 49]. Pomimo osłabienia tempa procesów życiowych, zmiany zachodzące w strukturze polisacharydów otoczki stwarzają szansę przeżywania sinic w warunkach silnego stresu wodnego. Wydalane przez komórki sinic polisacharydy i gromadzone wokół nich w różnej formie strukturalnej, tworzą rodzaj przestrzeni buforowej odgraniczającej komórki od nieprzyjaznego otoczenia [49].

W otoczkach sinic występują dwa barwniki (scytonemina i mikosporyna) absorbujące promieniowanie w zakresie 300–500 nm [38, 47, 87, 96]. Własności tych barwników pozostają pod ścisłą kontrolą mechanizmu ochraniającego komórki sinic przed wysuszeniem [116, 117]. Zakres absorpcji napromieniowania przez te pigmenty jest uzależniony od pH i składu chemicznego otaczającego roztworu. Polisacharydowe otoczki sinic mogą zawierać, w warunkach odwodnienia, nawet do 10% mikosporyny w stosunku do ich suchej masy. Działanie pojedynczego lub obydwu barwników razem stanowi filtr ochraniający komórki sinic w szerokim zakresie promieniowania UV [10, 38, 39].

U gatunków sinic zdolnych do wiązania azotu atmosferycznego, polisacharydowe otoczki ochraniają nitrogenazę przed destruktywnym oddziaływaniem tlenu. Jak wykazano w przypadku *Nostoc cordubensis* [86], *Beijerinckia dextrii* [6] i *Cyanothece* sp. [91], gruba śluzowata otoczka jest silną barierą fizyczną utrudniającą dyfuzję tlenu do wnętrza komórek sinic.

Polisacharydy budujące struktury otaczające komórki sinic wykazują naturę anionową i w związku z tym pełnią ważną rolę w wiązaniu i magazynowaniu jonów metali, zarówno tych niezbędnych do życia, jak i innych występujących w środowisku zewnętrznym [8, 23, 110]. Przykładem jest *Microcystis flos-aquae*, gatunek żyjący w alkalicznych środowiskach, który akumuluje w kapsułach jony żelaza i manganu. Jony te są trudno przyswajalne w takich warunkach [78]. Zgromadzone w polisacharydowych otoczkach sinic jony metali mogą stanowić nawet do 10% ich suchej masy [7].

Bezpośrednie obserwacje wskazują, że niektóre rodzaje polisacharydów są włączone w proces przytwierdzenia sinic do stałych elementów [30, 35]. Otoczki niektórych gatunków sinic zbudowane są z heteropolisacharydów zawierających reszty siarczanowe oraz białka i kwasy tłuszczowe, które decydują o stopniu hydrofobowości tych struktur [4, 31, 32]. Gatunek *Phormidium* sp. *J-1* syntetyzuje polisacharyd o nazwie emulcian [4], umożliwiający przytwierdzenie sinic do cząstek sedimentujących, jak również tworzących osad denny. Zdolność ta jest dodatkowo wspomagana przez przechodzenie tego związku do stanu żelu [5]. Wydalany do środowiska emulcian powoduje zlepianie się cząstek zawieszonych w wodzie i ich sedimentację. Prowadzi to do oczyszczania warstwy wody, a przez to do ułatwionej transmisji promieniowania słonecznego do głębiej położonych części zbiornika, a więc naturalnego siedliska życia dla tych gatunków sinic [31]. W przypadku gatunków żyjących w asocjacjach z roślinami ten rodzaj polisacharydów ułatwia, na zasadzie adhezji, przytwierdzenie ich do organów roślin, np. *Anabaena azollae* przytwierdza się do zagłębień liści paproci *Azolla filiculoides* [94], a *Nostoc* sp. do korzeni pszenicy.

ZNACZENIE POLISACHARYDÓW SINIC W BIOTECHNOLOGII

Wiele gatunków sinic było od dawna wykorzystywanych jako źródło pożywienia [56]. Stwierdzono, że niektóre gatunki sinic są bogatym źródłem białka oraz witamin B₁ i B₁₂ (np.

Arthrospira platensis). Białko sinic jest łatwo trawione, a skład aminokwasowy jest porównywalny ze składem białka roślin wyższych, np. soi [45]. W ostatniej dekadzie wykazano duże znaczenie biotechnologiczne polisacharydów wydalanych przez sinice do środowiska. Ich oryginalne własności fizyko-chemiczne, odmienne od własności polisacharydów pochodzących z roślin wyższych i glonów eukariotycznych, stanowią atrakcyjne źródło tych związków dla różnych gałęzi przemysłu [57, 107]. Mają one dużą wartość komercyjną, szczególnie, że często są wykorzystywane do produkcji żeli i modyfikacji reologicznych własności wodnych roztworów. Do podstawowych własności polisacharydów uwzględnianych w ocenie ich przydatności przemysłowej należy zaliczyć między innymi zdolność do tworzenia żeli, stabilizacji zawiesin i emulsji, podwyższania stopnia lepkości wodnych roztworów, tworzenia włókien i cienkich szklistych warstw po wysuszeniu, tworzenia ciekłych kryształów oraz ośrodków krystalizacji. Wszystkie powyższe własności oraz ich odpowiedni smak i zdolność do zwiększania objętości i/lub utrzymywania produktów żywnościowych w formie zawiesiny stwarzają możliwość zastosowania ich w przemyśle: spożywczym (produkcja roślinnej odmiany żelatyny, lodów, galaretek i innych), farmaceutycznym (jako składnik wielu leków), tekstylnym (malowanie i apreturowanie tkanin), tłuszczowym (przy odzyskiwaniu zużytych tłuszczów), kosmetycznym (w zawiesinach i emulsjach). Własności polisacharydów sinic są silnie zróżnicowane i zależą od gatunku, który je syntetyzuje. Niektóre z tych własności są porównywalne lub nawet lepsze od gumy ksantanowej, produkowanej przez bakterie *Xanthomonas campestris*, uważanej za produkt będący niezwykłym sukcesem biotechnologicznym [2]. Porównując własności dostępnych na rynku polisacharydów produkowanych przez bakterie lub grzyby wykazano, że niektóre szczepy sinic produkują polisacharydy, których wodne roztwory mają znacznie lepsze własności reologiczne i flokulacyjne. Pomimo ogromnych potencjalnych możliwości zastosowania polisacharydów sinic w różnych dziedzinach gospodarki,

jedynie o polisacharydach produkowanych przez *Cyanospira capsulata* można napisać, że w miarę dokładnie poznano ich własności fizyko-chemiczne.

Polisacharydy sinic zawierające grupy siarczanowe charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną. Stwarza to szansę na ich ewentualne szerokie zastosowanie w farmacji i medycynie [95], zwłaszcza, że wykazują one silne właściwości antibakteryjne i antywirusowe [29, 54, 59, 74, 119]. Ponadto, stanowiąc bogate źródło bioaktywnych cząstek wywierają one działanie immunostymulacyjne [52, 89], antymutagenne [14] i antyrakowe [66]. Zawierające grupy siarczanowe polisacharydy, produkowane przez *Arthrospira platensis* i inne gatunki, znalazły zastosowanie w hamowaniu replikacji kilku rodzajów wirusów w zawieszynie kultur ludzkich komórek, między innymi: HIV-1, HIV-3, opryszczki, grypy A, polio i świnki [3, 51, 72, 95]. Ważny wydaje się również fakt, że hamowanie replikacji następowało już przy bardzo niskim stężeniu polisacharydu, a co jest szczególnie istotne, nie obserwowano w tych warunkach żadnych oddziaływań toksycznych na komórki ludzkie [119]. Aktywność antywirusowa wzrastała wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej polisacharydu i stopniem jego nasycenia grupami siarczanowymi [95]. Wykazano, że hamują one pierwszy stopień w cyklu replikacji wirusa, to jest jego wiązanie się z receptorem komórkowym (w przypadku wirusa HIV-1 z receptorem CD4) [99], zapobiegając jego penetracji do wnętrza komórki. Ostatnio duże nadzieje związane są z potencjalnymi właściwościami spirulanu wapnia, polisacharydu produkowanego przez *Arthrospira platensis* (poprzednio *Spirulina platensis*) (ang. *calcium spirulan*, Ca-SP) [53, 95]. Wstępne rezultaty badań wykazały, że w jego skład wchodzi: ramnoza, ryboza, mannoza, fruktoza, galaktoza, kwas galakturonowy, reszty siarczanowe i jony Ca^{2+} . Stwierdzono, że usunięcie z Ca-SP jonów Ca^{2+} i zastąpienie ich jonami Na^+ prowadziło do utraty zdolności hamowania tworzenia syncytium indukowanego przez wirus HIV-1 [51]. Ca-SP ma bardzo niską aktywność antykoagulacyjną i charakteryzuje się dłuższym półokresem życia we krwi niż sto-

sowany klinicznie siarczan dekstranu. Jest on niezwykle obiecującym specyfikiem w terapii AIDS [95]. Jak wykazały wstępne badania kliniczne może on być stosowany zamiast innych syntetycznych polisacharydów, które wykazują szereg ubocznych efektów szkodliwych.

Innym praktycznym zastosowaniem polisacharydów sinic jest ich wykorzystanie do polepszania struktury i pojemności wodnej gleb pustylnych. Wysoka lepkość ich roztworów wodnych umożliwia łączenie drobnocząsteczkowych składników gleby, co prowadzi do poprawy jej struktury. Ponadto, zdolność do wiązania i utrzymywania dużych ilości wody przez te polisacharydy zwiększa pojemność wodną gleby. Chelatowanie kationów przez różne wolne reszty polimerów wykazujących ujemny ładunek w cząsteczce polisacharydu, znalazło zastosowanie w oczyszczaniu zbiorników wodnych z toksycznych metali ciężkich oraz zawiesin cząsteczek stałych [8, 9, 25, 43, 80]. Bardziej istotną jest jednak możliwość wykorzystywania polisacharydów o opisanych właściwościach w przemyśle, do syntezy kompleksów z cząsteczkami skrobi lub innymi syntetycznymi polimerami w celu otrzymywania specyficznych rodzajów polimerów o poszukiwanych właściwościach [68].

Niezwykle istotną sprawą są niskie koszty prowadzenia hodowli fotosyntetycznych mikroorganizmów w porównaniu z kosztami związanymi z uprawą roślin wyższych czy organizmów heterotroficznych. Przede wszystkim nie wymagają one do wzrostu organicznego źródła węgla, a kultury ich mogą być prowadzone nie tylko w tubach fotobioreaktorów, ale również w otwartych zbiornikach wodnych [114]. Stwarza to możliwość unikania wielu kosztownych etapów produkcji związanych z prowadzeniem kultury, w tym także kosztów sterylizacji pożywki. Istotną sprawą jest również łatwość odzyskiwania polisacharydów ze środowiska wodnego.

Współczesne biotechnologiczne badania możliwości wykorzystania i zastosowania polisacharydów sinic koncentrują się na dwóch kierunkach: a) wyselekcjonowaniu wysoko produktywnych mutantów oraz b) uzyskaniu sinicowych mutantów syntetyzujących polisacharydy

o zmodyfikowanej strukturze i specyficznych, pożądanых własnościach fizyko-chemicznych.

WNIOSKI KOŃCOWE

Dotychczasowe wyniki badań nad polisacharydami uwalnianymi przez sinice do środowiska nie dostarczyły wystarczającej wiedzy o strukturze i ich własnościach fizyko-chemicznych, jak również możliwościach regulacji ich syntezy. Zależności występujące pomiędzy strukturą pierwotną polisacharydów, a ich wtórną i trzeciorzędową konfiguracją zostały ustalone zaledwie w kilku przypadkach. Znajomość składu chemicznego i struktury polisacharydów może być podstawą przewidywania ich własności i potencjalnego zastosowania. Szereg odmiennych własności wykazywanych przez polisacharydy sinic w porównaniu z własnościami polisacharydów otrzymywanych z innych organizmów, jak również szerokie spektrum ich zastosowania w różnych gałęziach przemysłu i medycyny, stało się obecnie przyczyną intensyfikacji prowadzonych w tym zakresie badań. Można przypuszczać, że przyczyni się to w najbliższym czasie do odkrycia polisacharydów sinic o nowych, nieznanых dotąd własnościach. Potencjalne korzyści sugerują konieczność podjęcia badań genetycznych, fizjologicznych i środowiskowych, które mogą przyczynić się do opracowania metod optymalizujących syntezę polisacharydów oraz określenia sposobu regulacji ich składu. Postęp w rozwoju biotechnologicznych narzędzi badawczych powinien w przyszłości ułatwić produkcję tych cennych związków, a także obniżyć koszty ich syntezy poprzez wykorzystanie do celów aplikacyjnych tej niezwykle starej filogenetycznie i fascynującej grupy organizmów.

LITERATURA

- [1] ARAD S. M. 1988. Production of sulphated polysaccharides from red unicellular algae. W: T. STADLER, J. MOLLION, M. C. VERDUS, Y. KARAMANOS, H. MORVAN, D. CHRISTIAEN, (red.), *Algal Biotechnology*. Elsevier, London, s. 65–87.
- [2] ASH S. G. 1985. Polimers from microbes: the polysaccharide gums. *Shell Polymers*. **9**: 18–21.
- [3] AYEHUNIE S., BELAY A., BABA T. W., RUPRECHT R. M. 1998. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* **18**: 7–12.
- [4] BAR-OR Y., SHILO M. 1987. Characterization of macromolecular flocculants produced by *Phormidium* sp. strain J-1 and by *Anabaenopsis circularis* PCC 6720. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 2226–2230.
- [5] BAR-OR Y., SHILO M. 1988. The role of cell-bound flocculants in coaggregation of benthic cyanobacteria with clay particles. *FEMS Microbiol. Ecol.* **53**: 169–174.
- [6] BARBOSA H. R., ALTERTHUM A. 1992. The role of extracellular polysaccharide in cell viability and nitrogenase activity of *Beijerinckia dextrii*. *Can. J. Microbiol.* **38**: 986–988.
- [7] BENDER J., GOULD J. P., VATCHARAPIJARN J. S., YOUNG J. S., PHILLIPS P. 1994. Removal of zinc and manganese from contaminated water with cyanobacteria mats. *Water Env. Res.* **5**: 679–683.
- [8] BENDER J., RODRIGUEZ-EATON S., EKANEMESANG U. M., PHILLIPS P. 1994. Characterization of metal-binding bioflocculants produced by the cyanobacteria component of mixed microbial mats. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 2311–2315.
- [9] BERTOCCHI C., NAVARINI L., CESÁRO A. 1990. Polysaccharides from cyanobacteria. *Carbohydr. Polym.* **12**: 127–153.
- [10] BÖHM G., PFLEIDERER P., BÖGER P., SCHERER S. 1995. Structure of a novel oligosaccharide-mycosporine-amino acid ultraviolet A/B sunscreen pigment from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *J. Biol. Chem.* **270**: 8536–8539.
- [11] BURKE M. 1986. The glassy state and survival of anhydrous biological systems. W: A. C. LEOPOLD (red.), *Membranes, Metabolism and Dry Organisms*. Cornell University Press, Ithaca, s. 358–363.
- [12] CASTENHOLZ R. W., WATERBURG J. B. 1989. Cyanobacteria. W: J. T. STALEY, M. P. BRYANT, N. PFENNIG, J. G. HOLT, (red.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, Vol. 3, s. 1710–1799.
- [13] CESÁRO A., LIUT G., BERTOCCHI C., NAVARINI L., URBANI R. 1990. Physicochemical properties of the exocellular polysaccharide from *Cyanospira capsulata*. *Int. J. Biol. Macromol.* **12**: 79–84.
- [14] CHAMORRO A., SALAZAR M., FAVILA L., BOURGES H. 1996. Pharmacology and toxicology of *Spirulina* alga. *Rev. Invest. Clin.* **48**: 389–399.
- [15] CHANG T-P. 1980. Mucilage sheath as a barrier to carbon uptake in a cyanophyte, *Oscillatoria rubescens* D. C. *Arch. Hydrobiol.* **88**: 128–133.
- [16] CIFERRI O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiol. Rev.* **47**: 551–578.
- [17] COHEN Y., JORGENSEN B. B., REVSBECH N. P., PAPLAWSKI R. 1986. Adaptation to hydrogen sulfide of oxygenic and anoxygenic photosynthesis among cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **51**: 398–407.
- [18] COSTERTON J. W., CHENG K. J., GEESEY G. G., LADD T. I., NICKEL J. C., DASGUPTA M., MARRIE T. J. 1987.

- Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* **41**: 435–464.
- [19] CRESCENZI V. 1994. Polysaccharide science and technology: development and trends. *Trends Protein Sci.* **2**: 104–109.
- [20] DAWES E. A. 1986. *Microbial Energetics*. Blackie, Glasgow.
- [21] DE CHAZAL N. M., SMAGLIŃSKI S., SMITH G. 1992. Methods involving light variation for isolation of cyanobacteria: characterization of isolates from central Australia. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 3561–3566.
- [22] DE PHILIPPIS R., MARGHERI M. C., PELOSI E., VENTURA S. 1993. Exopolysaccharide production by a unicellular cyanobacterium isolated from a hypersaline habitat. *J. Appl. Phycol.* **5**: 387–394.
- [23] DE PHILIPPIS R., SILI C., TASSINATO G., VINCENZINI M., MATERASSI R. 1991. Effects of growth conditions on exopolysaccharide production by *Cyanospira capsulata*. *Biores. Technol.* **38**: 101–104.
- [24] DE PHILIPPIS R., SILI C., VINCENZINI M. 1996. Response of an exopolysaccharide-producing heterocystous cyanobacterium to changes in metabolic carbon flux. *J. Appl. Phycol.* **8**: 275–281.
- [25] DE PHILIPPIS R., VINCENZINI M. 1998. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *FEMS Microbiol. Rev.* **22**: 151–175.
- [26] DOR I., PAZ N. 1989. Temporal and spatial distribution of mat microalgae in the experimental solar ponds, Dead Sea area, Israel. W: Y. COHEN, E. ROSENBERG (red.), *Microbial mats: physiological ecology of benthic microbial communities*. American Society for Microbiology, Washington, D. C., s. 114–122.
- [27] DUBINSKY O., LERENTAL Y. B., CHRISTIAEN D., GLASER R., BARAK Z., ARAD S. M. 1988. Production and characterization of polysaccharides in the unicellular red alga *Rhodella reticulata*. W: T. STADLER, J. MOLLION, M. C. VERDUS, Y. KARAMANOS, H. MORVAN, D. CHRISTIAEN (red.), *Algal Biotechnology*. Elsevier, London, s. 451–461.
- [28] DUNN J. H., WOLK C. P. 1970. Composition of the cellular envelopes of *Anabaena cylindrica*. *J. Bacteriol.* **130**: 153–158.
- [29] FALCH B. S., KONING G. M., WRIGHT AD., STICHER O., ANGERHOFER C. K., PEZZUTO J. M., BACHMANN H. 1995. Biological activities of cyanobacteria: evaluation of extracts and pure compounds. *Planta Med.* **61**: 321–328.
- [30] FATTOM A., SHILO M. 1984. Hydrophobicity as an adhesion mechanism of benthic cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**: 135–143.
- [31] FATTOM A., SHILO M. 1984. *Phormidium* J-1 bioflocculant: production and activity. *Arch. Microbiol.* **139**: 421–426.
- [32] FATTOM A., SHILO M. 1985. Production of emulcyan by *Phormidium* J-1: its activity and function. *FEMS Microbiol. Ecology* **31**: 3–9.
- [33] FILALI MOUHIM R., CORNET J. F., FONTAINE T., FOURNET B., DUBERTRET G. 1993. Production, isolation and preliminary characterization of the exopolysaccharide of the cyanobacteria *Spirulina platensis*. *Biotechnol. Lett.* **15**: 567–572.
- [34] FISCHER D., SCHLÖSSER U. G., POHL P. 1997. Exopolysaccharide production by cyanobacteria grown in closed photobioreactors and immobilized using white cotton towelling. *J. Appl. Phycol.* **9**: 205–213.
- [35] FLAIBANI A., OLSEN Y., PAINTER T. J. 1989. Polysaccharides in desert reclamation: compositions of exocellular proteoglycan complexes produced by filamentous blue-green and unicellular green edaphic algae. *Carbohydr. Res.* **190**: 235–248.
- [36] FLORENZANO G., SILI C., PELOSI E., VINCENZINI M. 1985. *Cyanospira rippkae* and *Cyanospira capsulata* (gen. nov. and spp. nov.): new filamentous heterocystous cyanobacteria from Magadi Lake (Kenya). *Arch. Microbiol.* **140**: 301–306.
- [37] GANTAR M., ROWELL P., KERBY N. W., SUTHERLAND I. W. 1995. Role extracellular polysaccharide in the colonization of wheat (*Triticum vulgare* L.) roots by N_2 -fixing cyanobacteria. *Biol. Fertil. Soils* **19**: 41–48.
- [38] GARCIA-PICHEL F., CASTENHOLZ R. W. 1991. Characterization and biological implications of scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment. *J. Phycol.* **27**: 395–409.
- [39] GARCIA-PICHEL F., CASTENHOLZ R. W. 1993. Occurrence of UV-absorbing, mycosporine-like compounds among cyanobacterial isolates and an estimate of their screening capacity. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 163–169.
- [40] GAROZZO D., IMPALLOMENI G., SPINA E., STURIALE L., CESÁRA A., CESCUTTI P. 1995. Identification of N-acetylglucosamine and 4–O-[carboxyethyl]mannose in the exopolysaccharide from *Cyanospira capsulata*. *Carbohydr. Res.* **270**: 97–106.
- [41] GEITLER L. 1932. Cyanophyceae. W: L. RABENHORST (red.), *Kryptogamen flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*. Akademische Verlagsgesellschaft m.b.H., Leipzig, Germany, s. 1–1196.
- [42] GLOAGUEN V., MORVAN H., HOFFMAN L. 1995. Released and capsular polysaccharides of Oscillatoriaceae (Cyanophyceae, Cyanobacteria). *Alg. Studies* **78**: 53–69.
- [43] GLOAGUEN V., MORVAN H., HOFFMAN L. 1996a. Metal accumulation by immobilized cyanobacterial mats from a thermal spring. *J. Env. Sci. Health, Part A*, **31**: 2437–2451.
- [44] GLOAGUEN V., WIERUSZESKI J. M., STRECKER G., HOFFMANN L., MORVAN H. 1995b. Identification by NMR spectroscopy of oligosaccharides obtained by acidolysis of the capsular polysaccharides of a thermal biomass. *Int. J. Biol. Macromol.* **17**: 387–393.
- [45] GUDIN C., THEPENIER C. 1986. Bioconversion of solar energy into organic chemicals by microalgae. *Adv. Biotechnol. Processes* **6**: 73–110.
- [46] HERSHKOVITZ N., OREN A., COHEN Y. 1991. Accumulation of trehalose and sucrose in cyanobacteria exposed to matric water stress. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 645–648.
- [47] HILL D. R., HIADUN S. L., SCHERER S., POTTS M. 1994. Water stress proteins of *Nostoc commune* (Cyanobac-

- teria) are secreted with UV-A/B-absorbing pigments and associate with 1,4-D-xylanxylohydrolase activity. *J. Biol. Chem.* **269**: 7726–7734.
- [48] HILL D. R., KEENAN T. W., HELM R. F., POTTS M., CROWE M. L., CROWE J. H. 1997. Extracellular polysaccharide of *Nostoc commune* (Cyanobacteria) inhibits fusion of membrane vesicles during desiccation. *J. Appl. Phycol.* **9**: 237–248.
- [49] HILL D. R., PEAT A., POTTS M. 1994. Biochemistry and structure of the glycan secreted by desiccation-tolerant *Nostoc commune* (Cyanobacteria). *Protoplasma*. **182**: 126–148.
- [50] HELM R. F., HUANG Z., EDWARDS D., LEESON H., PEERY W., POTTS M. 2000. Structural characterization of the released polysaccharide of desiccation-tolerant *Nostoc commune* DRH-1. *J. Bacteriol.* **182**: 974–982.
- [51] HAYASHI K., HAYASHI T., KOJIMA I. 1996. A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: in vitro and ex vivo evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **12**: 1468–1471.
- [52] HAYASHI O., KATOH T., OKUWAKI Y. 1994. Enhancement of antibody production in mice dietary *Spirulina platensis*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **40**: 431–441.
- [53] HAYASHI T., HAYASHI K., MAEDA M., KOJIMA I. 1996. Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga *Spirulina platensis*. *J. Nat. Prod.* **59**: 83–87.
- [54] HASUI M., MATSUDA M., OKUTANI K., SHIGETA S. 1995. In vitro antiviral activities of sulfated polysaccharides from marine microalga (*Cochlodinium polykrikoides*) against human immunodeficiency virus and other enveloped viruses. *Int. J. Biol. Macromol.* **17**: 293–297.
- [55] LAMA L., NICOLAUS B., CALANDRELLI V., MANCA M. C., ROMANO I., GAMBACORTA A. 1996. Effect of growth conditions on endo- and exopolymer biosynthesis in *Anabaena cylindrica* 10C. *Phytochem.* **42**: 655–659.
- [56] LEM N. W., GLICK B. R. 1985. Biotechnological uses of cyanobacteria. *Biotech. Adv.* **3**: 195–208.
- [57] LINTON J. D. 1990. The relationship between metabolite production and the growth efficiency of the producing organisms. *FEMS Microbiol. Rev.* **75**: 1–18.
- [58] LINTON J. D., ASH S. G., HUYBRECHTS L. 1991. Microbial polysaccharides. W: D. BYROM (red.), *Biomaterials*. Stockton Press, New York, s. 215–261.
- [59] LOYA S., RESHEF V., MIZRACHI E., SILBERSTEIN C., RACHAMIM Y., CARMELI S., HIZI A. 1998. The inhibition of the reverse transcriptase of HIV-1 by the natural sulfoglycolipids from cyanobacteria: contribution of different moieties to their high potency. *J. Nat. Prod.* **7**: 891–895.
- [60] LOW C. S.F., WHITE D. C. 1989. Regulation of external polymer production in benthic microbial communities. W: Y. COHEN, E. ROSENBERG (red.), *Microbial Mats – Physiological Ecology of Benthic Microbial Communities*. American Society for Microbiology, Washington, DC, s. 228–238.
- [61] LUPI F. M., FERNANDES H. M. L., SÁ-CORREIA I., NOVAIS J. M. 1991. Temperature profiles of cellular growth and exopolysaccharide synthesis by *Botryococcus brauni* Kütz. UC 58. *J. Appl. Phycol.* **3**: 35–42.
- [62] MACKENZIE A. P. 1977. Non-equilibrium freezing behavior of aqueous systems. *Philos. Trans. R. Soc. London (Biol.)* **278**: 167–189.
- [63] MARRA M., PARMERI A., BALLIO A., SEGRE A., SLODKI M. E. 1990. Structural characterization of the exocellular polysaccharide from *Cyanospira capsulata*. *Carbohydr. Res.* **197**: 338–344.
- [64] MATULEWICZ C., PERCIVAL E. E., WEIGEL H. 1984. Water-soluble polysaccharides of antarctic and cultured *Phormidium* species of Cyanophyceae. *Phytochem.* **23**: 103–105.
- [65] MAZOR G., KIDRON G. J., VONSHAK A., ABELIOVICH A. 1996. The role of cyanobacterial exopolysaccharides in structuring desert microbial crusts. *FEMS Microbiol. Ecol.* **21**: 121–130.
- [66] MISHIMA T., MURATA J., TOYOSHIMA M., FUJII H., NAKAJIMA M., HAYASHI T., KATO T., SAIKI I. 1998. Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from blue-green algae, *Spirulina platensis*. *Clin Exp. Metastasis* **16**: 541–550.
- [67] MOORE B. G., TESCHER R. G. 1964. Extracellular polysaccharides of algae: effects on life-support systems. *Science* **145**: 586–587.
- [68] MORENO J., RODRIGUEZ H., VARGAS M. A., RIVAS J., GUERRERO M. C. 1995. Nitrogen-fixing cyanobacteria as source of phycobiliprotein pigments. Composition and growth performance of ten filamentous heterocystous strains. *J. Appl. Phycol.* **7**: 17–23.
- [69] MORVAN H., GLOAGUEN V., VEBRET L., JOSET F., HOFFMANN L. 1997. Structure-function investigations on capsular polymers as a necessary step for new biotechnological applications: The case of the cyanobacterium *Mastigocladus laminosus*. *Plant Physiol. Biochem.* **35**: 671–683.
- [70] MUSTER P., BINDER A., SCHNEIDER K., BACHOFEN R. 1983. Influence of temperature and pH on the growth of the thermophilic cyanobacterium *Mastigocladus laminosus* in continuous culture. *Plant Cell Physiol.* **24**: 273–280.
- [71] NICOLAUS B., PANICO A., LAMA L., ROMANO I., MANCO M. C., DE GIULIO A., GAMBACORTA A. 1999. Chemical composition and production of exopolysaccharides from representative members of heterocystous and non-heterocystous cyanobacteria. *Phytochem.* **52**: 639–647.
- [72] NOWOTNY A., MENDEL R., WEGNER U., MUNDT S., LINDEQUIST U. 1997. Antiviral activity of an aqueous extract of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Phytother. Res.* **11**: 93–96.
- [73] ORCUTT D. M., PARKER B., LUSBY W. R. 1986. Lipis in blue-green algal mats (modern stromatolites) from Antarctic oasis lakes. *J. Phycol.* **22**: 523–530.
- [74] OSTENVIK O., SKULBERG O. M., UNDERDAL B., HORMAZABAL V. 1998. Antibacterial properties of extracts

- from selected planktonic freshwater cyanobacteria – a comparative study of bacterial bioassays. *J. App. Microbiol.* **84**: 1117–1124.
- [75] PAINTER T. J. 1983. Algal polysaccharides. W: G. O. ASPINALL (red.), *The Polysaccharides*. Academic Press, New York, V. 2, s. 202–206.
- [76] PANOFF J., JOSET F. 1989. Selection by anion-exchange chromatography of exopolysaccharide mutants of the cyanobacterium *Synechocystis* strain PCC 6803. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 1452–1456.
- [77] PANOFF J., PRIEM B., MORVAN H., JOSET F. 1988. Sulphated exopolysaccharides produced by two unicellular strains of cyanobacteria, *Synechocystis* PCC 6803 and 6714. *Arch. Microbiol.* **150**: 558–563.
- [78] PARKER D., SCHRAM B., PLUDE J. L., MOORE R. E. 1996. Effect of metal cations on the viscosity of a pectin-like capsular polysaccharides from the cyanobacterium *Microcystis flos-aquae* C3–40. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 1208–1213.
- [79] PENTECOST A. 1985. Relationships between light, temperature and photosynthesis in a temperate *Microcoleus* (cyanobacterium) mat. *Microbios* **43**: 141–148.
- [80] PLUDE J., PARKER D. J., SCHOMMER O., TIMMERMAN R. J., HAGSTROM S. A., JOERS J. M., HNASKO R. 1991. Chemical characterization of polysaccharide from the slime layer of the cyanobacterium *Microcystis flos-aquae* C3–40. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 1696–1700.
- [81] POTTS M. 1980. Blue-green algae (Cyanophyta) in marine coastal environments of the Sinai Peninsula: distribution, zonation, stratification and taxonomic diversity. *Phycologia* **19**: 60–73.
- [82] POTTS M. 1986. The protein index of *Nostoc commune* UTEX 584 (cyanobacteria): changes induced in immobilized cells by water stress. *Arch. Microbiol.* **146**: 87–95.
- [83] POTTS M. 1994. Disiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiol. Rev.* **58**: 755–805.
- [84] POTTS M., WHITTON B. A. 1980. Vegetation of the intertidal zone of the lagoon of Aldabra, with particular reference to the photosynthetic prokaryotic communities. *Proc. R. Soc. London Ser. B* **208**: 13–55.
- [85] PRINSEP M. A., THOMPSON R. A., WEST M. L., WYLIE B. 1996. Tolypodiol, an antiinflammatory diterpenoid from the cyanobacterium *Tolypothrix nodosa*. *J. Nat. Prod.* **59**: 786–788.
- [86] PROSPERI C. H. 1994. A cyanophyte capable of fixing nitrogen under high levels of oxyge. *J. Phycol.* **30**: 222–224.
- [87] PROTEAU P. J., GERWICK W., GARCIA-PICHEL F., CASTENHOLZ R. 1993. The structure of scytonemin, an ultraviolet sunscreen pigment from the sheaths of cyanobacteria. *Experientia* **49**: 825–829.
- [88] QUENEMER B., LAHAYE M., BOBIN-DUBIGEON C. 1997. Sugar determination in ulvans by a chemical-enzymatic method coupled to high performance anion exchange chromatography. *J. App. Phycol.* **9**: 179–188.
- [89] QURESHI M., ALI R. 1996. *Spirulina platensis* exposure enhances macrophage phagocytic function in cats. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **18**: 457–463.
- [90] RAMUS J. 1972. The production of extracellular polysaccharide by the unicellular red alga *Porphyridium aeruginum*. *J. Phycol.* **8**: 97–111.
- [91] REDDY K. J., SOPER B. W., TANG J., BRADLEY R. L. 1996. Phenotypic variation in exopolysaccharide production in the marine, aerobic nitrogen-fixing unicellular cyanobacterium *Cyanothece* sp. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **12**: 311–318.
- [92] REES D. 1972. Polysaccharide gels: a molecular view. *Chem. Ind.* **19**: 630–636.
- [93] RIPPKA R., DERUELLES J., WATERBURG J., HERDMAN M., STANIER R. 1979. Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* **111**: 1–61.
- [94] ROBINS R. J., HALL D. O., SHI D. J., TURNER R. J., RHODES M. J. 1986. Mucilage acts to adhere cyanobacteria and cultured plant cells to biological and inert surfaces. *FEMS Microbiol. Lett.* **34**: 155–160.
- [95] SCHAEFFER D., KRYLOV V. 2000. Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and cyanobacteria. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **45**: 208–227.
- [96] SCHERER S., CHEN T., BÖGER P. 1988. W new UV-A/B protecting pigment in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Plant Physiol.* **88**: 1055–1057.
- [97] SCHERER S., ERNST A., CHEN T., BÖGER P. 1984. Rewetting of drought-resistant blue-green algae: time course of water uptake and reappearance of respiration, photosynthesis, and nitrogen fixation. *Oecologia* **62**: 418–423.
- [98] SCHERER S., POTTS M. 1989. Novel water stress protein from a desiccation-tolerant cyanobacterium. *J. Biol. Chem.* **264**: 12546–12553.
- [99] SCHOLS D., BABA M., PAUWELS R., DE CLERCQ E. 1989. Flow cytometric method to demonstrate whether anti-HIV-1 agents inhibit virion binding to T₄⁺ cells. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2**: 10–15.
- [100] SCHRADER M., DREWS G., WECKESSER J., MAYER H. 1982 a. Polysaccharide containing 6–0-methyl-D-mannose in *Chlorogloeopsis* PCC 6912. *J. Gen. Microbiol.* **128**: 273–277.
- [101] SCHRADER M., DREWS G., GOLECKI J. R., WECKESSER J. 1982 b. Isolation and characterization of the sheath from the cyanobacterium *Chlorogloeopsis* PCC 6912. *J. Gen. Microbiol.* **128**: 267–272.
- [102] SHATWELL K. P., SUTHERLAND I. W., ROSS-MURPHY S. B. 1990. Influence of acetyl and pyruvate substituents on the solution properties of xanthan polysaccharide. *Intenat. J. Biol. Macromol.* **12**: 71–78.
- [103] SHEPHERD R., ROCKEY J., SUTHERLAND I. W., ROLLER S. 1995. Novel bioemulsifiers from microorganisms for use in foods. *J. Biotechnol.* **40**: 207–217.
- [104] SUDO H., GRANT BURGESS J., TAKEMASA H., NAKAMURA N., MATSUNAGA T. 1995. Sulphated exopolysaccharide production by the halophilic cyanobacterium *Aphamocapsa halophytica*. *Curr. Microbiol.* **30**: 219–222.
- [105] SUTHERLAND I. W. 1977. Bacterial exopolysaccharides – their nature and production. W: I. W. SUTHERLAND (red.), *Surface Carbohydrates of the Prokaryotic Cell*. Academic Press, London, s. 27–95.

- [106] SUTHERLAND I. W. 1987. Polysaccharides modification; a physiological approach. W: M. YALPANI (red.), *Industrial Polysaccharides: Genetic Engineering, Structure/Property Relations and Applications*. Elsevier Science PUBLISHERS B. V., Amsterdam, s. 71–79.
- [107] SUTHERLAND I. W. 1994. Structure-function relationships in microbial exopolysaccharides. *Biotech. Adv.* **12**: 393–448.
- [108] TANDEAU de MARSAC N., HOUMARD J. 1993. Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiol. Rev.* **104**: 119–190.
- [109] TEASE B., JÜRGENS U., GOLECKI J., HEINRICH U., RIPPKA R., WECKESSER J. 1991. Fine-structural and chemical analysis on inner and outer sheath of the cyanobacterium *Gloeothece* sp. PCC 6909. *Antonie van Leeuwenhoek* **59**: 27–34.
- [110] TEASE B. E., WALKER R. W. 1987. Comparative composition of the sheath of the cyanobacterium *Gloeothece* ATCC 27152 cultured with and without combined nitrogen. *J. Gen. Microbiol.* **133**: 3331–3339.
- [111] TSENG C. T., ZHAO Y. 1994. Extraction, purification and identification of polysaccharides of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanophyceae). *Alg. Studies* **75**: 303–312.
- [112] VINCENZINI M., De PHILIPPIS R., SILI C., MATERASSI R. 1990. Studies on exopolysaccharide release by diazotrophic batch cultures of *Cyanospira capsulata*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **34**: 392–396.
- [113] VINCENZINI M., De PHILIPPIS R., SILI C., MATERASSI R. 1993. Stability of molecular and rheological properties of the exopolysaccharide produced by *Cyanospira capsulata* cultivated under different growth conditions. *J. Appl. Phycol.* **5**: 539–541.
- [114] VONSHAK A. 1988. Porphyridium. W: M. A. BOROWITZKA, L. J. BOROWITZKA (red.), *Micro-Algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, s. 122–134.
- [115] WEBER M., WÖBER G. 1975. The fine structure of the branched *a*-D-glucan from the blue-green alga *Anacystis nidulans*: comparison with other bacterial glycogen and phytoglycogen. *Carbohydr. Res.* **39**: 295–302.
- [116] WHITTON B. 1987. Survival and dormancy of blue-green algae. W: Y. HENIS (red.), *Survival and Dormancy of Microorganisms*. 1st ed WILEY J., and Sons, Inc., New York, s. 109–167.
- [117] WHITTON B. 1992. Diversity, ecology and taxonomy of the cyanobacteria. W: N. H. MANN, N. G. CARR (red.), *Photosynthetic Prokaryotes*. Plenum Press, New York, s. 1–51.
- [118] WIGGINS P. M. 1990. Role of water in some biological processes. *Microbiol. Rev.* **54**: 432–449.
- [119] WITVROUW M., De CLERCQ E. 1997. Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential antiviral drugs. *Gen. Pharmacol.* **29**: 497–511.