

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ  
ПЕКТИНАЗНЫХ ГЕНОВ *PGU* ДРОЖЖЕЙ *Saccharomyces cerevisiae*:  
ОТБОР ШТАММОВ С ВЫСОКОЙ  
ПЕКТИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© 2024 г. А. Н. Боровкова<sup>1</sup>, М. Ю. Шаламитский<sup>2</sup>, Е. С. Наумова<sup>1</sup>, \*

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение  
Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, 123182 Россия

<sup>2</sup>ФГБУН Всероссийский национальный научно-исследовательский институт  
виноградарства и виноделия “Магарач” Российской академии наук, Ялта, 298600 Россия

\*e-mail: lena\_naumova@yahoo.com

Поступила в редакцию 26.09.2024 г.

После доработки 01.10.2024 г.

Принята к публикации 05.10.2024 г.

Проведен масштабный скрининг пектинолитической активности у штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, выделенных из разных типов вин, ягод винограда, бродящего суслу, фруктовых и ягодных соков, а также из природных источников и отходов производств в разных регионах мира. Из 305 изученных штаммов большинство (249) не продуцировали активную эндополигалактуроназу. Согласно полученным результатам, способность гидролизовать пектин, в целом, не характерна для дрожжей вида *S. cerevisiae*. Независимо от источника и места выделения штаммы *S. cerevisiae* имеют один пекти-назный ген *PGU1*, как правило, расположенный на X хромосоме. Другая хромосомная локализация генов *PGU1* – хромосомы VII/XV и IX обнаружена только у четырех штаммов, выделенных из забродившего сока пальмы в Малайзии, и винного штамма I-411 (Закарпатье, Украина). Отобрано десять штаммов *S. cerevisiae* с наибольшей пектинолитической активностью, которые представляют интерес для дальнейших молекулярно-генетических исследований и селекционных работ с винными дрожжами.

**Ключевые слова:** винные дрожжи, *Saccharomyces cerevisiae*, эндополигалактуроназа, пектиназа, гены *PGU*, хромосомное картирование

DOI: 10.56304/S0234275824050041

Важной характеристикой винных дрожжей является способность расщеплять пектиновые вещества ягод винограда, даже незначительное содержание которых затрудняет процесс осветления виноградного суслу и приводит к появлению коллоидных помутнений, а также засорению фильтров [1–3]. Содержание пектинов в ягодах винограда, в зависимости от сорта, составляет от 0.5 до 5 г/л. Процесс биохимического гидролиза растительных пектиновых веществ происходит с участием нескольких ферментов: пектиназы (полигалактуроназы КФ 3.2.1.15), пектин-лиазы (КФ 4.2.2.10) и пектин-эстеразы (КФ 3.1.1.11). Эндополигалактуроназа – разжижающий фермент, который является наиболее важным ферментом модификации пектина, действующим на заключительных стадиях его расщепления [4–6].

В виноделии, используемые для осветления виноградного суслу коммерческие ферментные препараты мицелиальных грибов *Aspergillus* и *Trichoderma*, помимо эндополигалактуроназы, могут содер-

жать примеси и ферменты с нежелательной побочной активностью, например, пектинэстеразой, приводящей к повышенному содержанию метанола в вине [7]. Поскольку дрожжи, как правило, не секретируют пектинэстеразу, то их пектиназы безопасны для осветления фруктовых соков и вина. Помимо дрожжей *Saccharomyces*, в сбраживании виноградного суслу на начальных этапах ферментации принимают участие различные виды дрожжей, некоторые из которых обладают эндополигалактуроназной активностью: *Aureobasidium pullulans*, *Metschnikowia* spp., *Kluyveromyces marxianus* [8–10]. Однако в процессе спиртового брожения несхаромицетные дрожжи полностью вытесняются истинно винными дрожжами-сахаромицетами [11]. В последние годы набирают популярность исследования, посвященные производству пектинолитических ферментов дрожжами, в основном, *Saccharomyces cerevisiae* [12]. Использование в качестве стартовых культур штаммов *Saccharomyces*, обладающих эндополигалактуроназой ак-

тивностью, способствует не только эффективному осветлению вина и значительному сокращению времени фильтрации, но также приводит к более полному раскрытию букета винограда и повышению органолептических показателей вина [13, 14]. Это особенно актуально для производства вин с узнаваемой сортовой индивидуальностью, например, из ароматических (Мускат) и полу-ароматических (Рислинг) сортов винограда.

Род *Saccharomyces* включает восемь видов: *S. cerevisiae*, *S. arboricola*, *S. cariocanus*, *S. bayanus*, *S. kudriavzevii*, *S. jurei*, *S. mikatae* и *S. paradoxus* [15–17]. Дрожжи *S. cerevisiae* и *S. bayanus* связаны с хозяйственной деятельностью человека и используются в различных ферментационных процессах. Остальные шесть видов, как правило, выделяются из различных природных источников (сокотечения широколиственных деревьев, почва, насекомые и др.). Однако среди них обнаружены штаммы, обладающие пектинолитической активностью, которые могут представлять интерес для виноделия [20].

Традиционные для виноделия дрожжи *S. cerevisiae*, как правило, не обладают пектинолитической активностью [18–20]. Показано, что из 60 изученных испанских винных штаммов *S. cerevisiae* ген *PGU1*, кодирующей эндополигалактуроназу, был обнаружен у 51 штамма [21]. Однако большинство из этих штаммов обладали очень слабой пектинолитической активностью или вообще были не способны расщеплять пектин. В этой связи актуальным является поиск штаммов *S. cerevisiae*, способных секретировать активную эндополигалактуроназу.

Цель этой работы – отбор штаммов дрожжей *S. cerevisiae*, обладающих высокой пектинолитической активностью, на материале большого количества штаммов, выделенных из различных ферментационных процессов и природных источников.

## УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Было изучено 305 штаммов дрожжей *S. cerevisiae* различного происхождения: виноделие (вино, ягоды винограда, бродящее сусло), пивоварение, производство спирта, фруктовые и ягодные соки, различные природные источники (сокотечение и кора широколиственных деревьев, насекомые, почва), отходы оливкового (альпехин) и спиртового производств. В табл. 1 приведены только способные расщеплять пектин штаммы и их происхождение. Дрожжи культивировали при 28°C на полной питательной среде YPD (г/л): дрожжевой экстракт (Difco) – 10, пептон (Difco) – 20, глюкоза (Amresco) – 20, агар (Difco) – 20. Для приготовления нативной хромосомной ДНК дрожжи выращивали в 15 мл жидкой YPD-среды при 28°C в течение 12–16 ч.

## Пектинолитическая активность дрожжей

Скрининг на наличие пектинолитической активности проводили по методике Louw и др. [22] с модификациями. Дрожжи культивировали в течение суток на твердой YPD-среде. Суточные культуры дрожжей с помощью микробиологической петли высевали на чашки Петри содержащей полигалактуроновую кислоту (PG) минимальной средой, следующего состава (г/л): дрожжевая азотная основа с аминокислотами (Difco, США) – 6.7, полигалактуроновая кислота (Sigma, США) – 12.5, глюкоза – 10, агар (Difco) – 20, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 6.8 (pH 4.0) и культивировали при 28°C в течение 3 сут. Выросшие колонии дрожжей смывали дистиллированной водой, а затем чашки заливали 6 М раствором HCl на 5–10 мин. Пектинолитическую активность определяли по четким зонам гидролиза (ореолам) полигалактуроновой кислоты вокруг колоний дрожжей. Чашки фотографировали и определяли размер ореолов с использованием программного обеспечения IC Measure\_2.0.0.272 (www.helicon.ru). Для каждого штамма проведено два независимых эксперимента. Степень эффективности гидролиза полигалактуроновой кислоты (пектинолитическая активность штаммов) ранжировали исходя из размера ореолов. В качестве контроля использовали запатентованный штамм *S. cerevisiae* ВКПМ Y-718, обладающий высокой пектинолитической активностью, – экспериментально полученный полиплоид винного штамма Кокур-3 [23]. Для сравнения также использовали типовые культуры *S. arboricola* CBS 10644, *S. cariocanus* UFRJ 50816, *S. kudriavzevii* NBRC 1802, *S. jurei* NCYC 3947, *S. mikatae* NBRC 1815, *S. paradoxus* CBS 432 и штамм дрожжей *S. bayanus* CBS 7001.

## Пульс-электрофорез нативных хромосомных ДНК (молекулярное карiotипирование) и Саузерн-гибридизация

Выделение хромосомной ДНК проводили, как описано ранее [24]. Для разделения хромосомной ДНК использовали аппарат CHEF-DR III (Bio-Rad, США). Образцы помещали в щели 1%-ного агарозного геля. Пульс-электрофорез проводили при 200 В в течение 15 ч при времени переключения полей 60 с и 9 ч при времени переключения полей 90 с. В качестве буфера использовали 0.5 × TBE (45 mM трис (Panreac, Испания), 10 mM ЭДТА (Panreac), 45 mM борная кислота (Panreac), pH 8.0), охлажденный до 14°C. Штамм *Saccharomyces cerevisiae* YNN 295 (Bio-Rad), имеющий известный порядок и размеры хромосом, служил карiotипическим стандартом. После электрофореза гель окрашивали бромистым этидием (Amresco) в течение 2–3 ч, затем промывали в дистиллированной воде в течение 2 ч и фотографировали в УФ-свете.

**Таблица 1.** Происхождение и пектинолитическая активность штаммов дрожжей *S. cerevisiae*  
**Table 1.** Origin and pectinolytic activity of the *Saccharomyces cerevisiae* strains

№ п/п	Штамм <sup>а</sup>	Источник, Место выделения	Диаметр <sup>б</sup> , мм	Номер группы
<i>S. cerevisiae</i>				
1	M212	Шампанское, Украина	6.5	1
2	SBY 1880-6C	Альпехин, Испания	7.8	1
3	S11F3-6B	Винная пальма <i>Caryota urens</i> , Шри-Ланка	6	1
4	GIV-51	Вино, Грузия	13.9	2
5	I-38	Спонтанно сброженное сусло, Таджикистан	12.7	2
6	I-419	Спонтанно сброженное сусло, Закарпатье, Украина	12.5	2
7	MUCL 30909	Ферментированная маниока, Бурунди, Африка	11.4	2
8	SBY 1880-6A	Альпехин, Испания	12.3	2
9	CECT 10515-2B	Альпехин, Испания	13.6	2
10	CECT 10407-3-1:2B	Альпехин, Испания	10.8	2
11	CECT 10485-6-3	Альпехин, Испания	13.7	2
12	ATCC 66812-5-3-4A	Оливковые стоки, Греция	14.3	2
13	КБП Y-4879	Абрикос, Дагестан, Россия	13.4	2
14	КБП Y-4588	Ягоды, Дагестан, Россия	11.8	2
15	I63.01	Экссудат <i>Quercus mongolica</i> , Благовещенск, Россия	12.1	2
16	I59.01	Экссудат <i>Quercus mongolica</i> , Благовещенск, Россия	13.8	2
17	S11F3-6D	Винная пальма <i>Caryota urens</i> , Шри-Ланка	11	2
18	NCYC 2402	Сок флоры кокосового ореха, Шри-Ланка	11.8	2
19	IGC 4591-4B	Виноградное сусло, Португалия	15.9	3
20	IGC 4591-4B-2B	Виноградное сусло, Португалия	15.9	3
21	IGC 4591-4D	Виноградное сусло, Португалия	17.6	3
22	ВКМ Y-1554-2A	Виноградное сусло, Братислава, Словакия	15.6	3
23	I-408	Спонтанно сброженное сусло, Закарпатье, Украина	16.1	3
24	I-439	Спонтанно сброженное сусло, Украина	19.5	3
25	I-413	Спонтанно сброженное сусло, Ужгород, Украина	15.7	3
26	I-424	Спонтанно сброженное сусло, Ужгород, Украина	17.6	3
27	ВКПМ Y-4748	Ягоды винограда, Дагестан, Россия	17.5	3
28	3.00	Виноград <i>Vitis amurensis</i> , Благовещенск, Россия	15.1	3
29	22.00	Плоды боярышника <i>Crataegus dahurica</i> , Благовещенск, Россия	15.6	3
30	ВКМ Y-1553-3A	Виноградная лоза, Братислава, Словакия	15.4	3
31	ATCC 52922-4-1-1A	Рисовое вино Тапуй, Филиппины	16.7	3
32	N37-1A	Экссудат <i>Quercus robur</i> , Ботанический сад Новосибирск, Россия	17.2	3
33	N38-4A	Экссудат <i>Quercus robur</i> , Ботанический сад Новосибирск, Россия	19	3
34	N39-7A	Экссудат <i>Quercus robur</i> , Новосибирск, Россия	17.2	3
35	UCDFST 61-137	<i>Drosophila pseudoobscura</i> , США	19.9	3
36	UCDFST 61-351	Слизетечение <i>Ulmus carpinifolia</i> , Калифорния, США	15.3	3
37	CECT 10266-2C	Дубильный раствор, Испания	16.2	3
38	CECT 10439-4-3	Альпехин, Испания	17	3
39	ALKO 2884= CBS 2910	Фекалии человека	16.7	3
40	I-412	Спонтанно сброженное сусло, Ужгород, Украина	20.4	4
41	I-61	Спонтанно сброженное сусло, Таджикистан	23.6	4
42	I-65	Спонтанно сброженное сусло, Таджикистан	22.1	4
43	I-407	Спонтанно сброженное сусло, Ужгород, Украина	23.6	4
44	I-411	Спонтанно сброженное сусло, Закарпатье, Украина	24.2	4
45	I-40	Спонтанно сброженное сусло, Таджикистан	22.9	4
46	I-409	Спонтанно сброженное сусло, Закарпатье, Украина	21.2	4
47	КБП Y-5009	Виноград, Дагестан, Россия	22.5	4
48	КБП Y-5176	Виноград, Дагестан, Россия	24.1	4

Таблица 1. Продолжение

№ п/п	Штамм <sup>а</sup>	Источник, Место выделения	Диаметр <sup>б</sup> , мм	Номер группы
49	Dji2-2B	Пальмовое вино, Джибути	23.8	4
50	UWO-PS 03-459-1-4D	Нектар пальмы <i>Bertam</i> , Малайзия	23	4
51	UWO-PS 03-433-3-2D	Нектар пальмы <i>Bertam</i> , Малайзия	21.2	4
52	UWO-PS 03-461-1-8B	Нектар пальмы <i>Bertam</i> , Малайзия	23	4
53	UWO-PS 05-217-3	Нектар пальмы <i>Bertam</i> , Малайзия	21.7	4
54	I-421	Спонтанно сброженное сусло, Ужгород, Украина	25.3	5
55	I-438	Спонтанно сброженное сусло, Закарпатье, Украина	26.4	5
56	T8-12B	Бродящее виноградное сусло, Таджикистан	26.8	5
57	ВКПМ Y-718 (контроль)	Полиплоидный мутант штамма Коккур-3, сухое белое вино, Крым <i>S. arboricola</i>	27.0	5
58	CBS 10644 <sup>T</sup>	Кора дуба <i>Quercus fabric</i> , Китай <i>S. bayanus</i>	3.5	1
59	CBS 7001	Ручейник <i>Mesophylax adopersus</i> , Испания <i>S. cariocanus</i>	15.5	3
60	UFRJ 50816 <sup>T</sup>	<i>Drosophila</i> sp., Бразилия <i>S. jurei</i>	11.8	2
61	NCYC 3947 <sup>T</sup>	Кора дуба <i>Quercus robur</i> , Франция <i>S. kudriavzevii</i>	17.2	3
62	NBRC 1802 <sup>T</sup>	Гниющие листья, Япония <i>S. mikatae</i>	5.0	1
63	NBRC 1815 <sup>T</sup>	Почва, Япония <i>S. paradoxus</i>	5.0	1
64	CBS 432 <sup>T</sup>	Кора дуба <i>Quercus</i> sp., Россия <i>Kluuyveromyces marxianus</i>	16.2	3
65	CBS 6556	Ферментированное кукурузное тесто, Мексика	Нд <sup>с</sup>	Нд <sup>с</sup>

<sup>а</sup> Сокращенные названия коллекций: VKM – Всероссийская коллекция микроорганизмов, Пушкино (Москва), Россия; VKPM – Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов, Москва, Россия; KBП – коллекция кафедры биологии почв МГУ, Москва, Россия; M, I – Коллекция микроорганизмов виноделия “Магарач” (КМВ “Магарач”), ФГБУН ВНИИВиВ “Магарач” РАН, Ялта, Россия; ATTC – American Type Culture Collection, Манассас, США; CBS – The Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Утрехт, Нидерланды; CECT – Spanish Type Culture Collection, University of Valencia, Валенсия, Испания; MUCL – Mycotheque de L’Universite, Catholique de Louvain, Лёвен, Бельгия; NBRC/IFO – National Institute of Technology and Evaluation, Токио, Япония; NCYC – National Collection of Yeast Cultures, Норидж, Великобритания; UCDFST – Herman J. Phaff Yeast Culture Collection of the Department of Food Science and Technology, University of California, Дэвис, Калифорния, США; UFRJ – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Бразилия; UWO (PS) – Culture collection of the Department of Biology, University of Western Ontario, Онтарио, Канада. Остальные штаммы из коллекции лаборатории молекулярной генетики дрожжей ФГБУ ГосНИИгенетика НИЦ “Курчатовский институт”, Москва, Россия. Соответствие штаммов различных коллекций: CBS 8711 = L19, CBS 7001 = MCYC 623, NBRC 1815 = CBS 8839, NBRC 1802 = CBS 8840, NCYC 3947 = CBS 14759, UFRJ 50816 = CBS 8841. T – типовая культура.

<sup>б</sup> Диаметр зоны гидролиза полигалактуроновой кислоты вокруг колоний дрожжей.

<sup>с</sup> Нет данных

<sup>а</sup> Acronyms for culture collections are as follows: VKM – All-Russian Collection of Microorganisms, Moscow, Russia; VKPM – All-Russian Collection of Industrial Microorganisms, Moscow, Russia; KBP – collection of the Department of Soil Biology MSU, Moscow, Russia; M, I – Magarach Collection of Winemaking Microorganisms, Magarach All-Russian National Institute for Vine and Winemaking, Russian Academy of Sciences, Yalta, Russia; ATTC – American Type Culture Collection, Manassas, USA; CBS – The Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, The Netherlands; CECT – Spanish Type Culture Collection, University of Valencia, Valencia, Spain; MUCL – Mycotheque de L’Universite, Catholique de Louvain, Leuven, Belgium; NBRC/IFO – National Institute of Technology and Evaluation, Tokyo, Japan; NCYC – National Collection of Yeast Cultures, Norwich, United Kingdom; UCDFST – Herman J. Phaff Yeast Culture Collection of the Department of Food Science and Technology, University of California, Davis, California, USA; UFRJ – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil; UWO (PS) – Culture collection of the Department of Biology, University of Western Ontario, Ontario, Canada; The remaining strains are from the collection of the Laboratory of Molecular Genetics of Yeasts, State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, NRC “Kurchatov Institute” (Moscow, Russia); correspondence of strains from different collections: CBS 7001 = MCYC 623, NBRC 1815 = CBS 8839, NBRC 1802 = CBS 8840, NCYC 3947 = CBS 14759, UFRJ 50816 = CBS 8841. T – type culture.

<sup>б</sup> Diameter of the polygalacturonic acid hydrolysis zone around yeast colonies.

<sup>с</sup> Data not available.

Хромосомную ДНК переносили на нитроцеллюлозную мембрану, используя аппарат Vacuum blotter (Bio-Rad). ДНК фиксировали на мембране путем отжига при 80°C в течение 2 ч. В качестве зонда использовали ПЦР-амплифицированный фрагмент длиной 1077 п.н., что покрывает большую часть кодирующей области гена *PGU1* штамма *S. cerevisiae* S288C. Метку вводили нерадиоактивным методом с использованием dUTP, меченого дигоксигенином (dig-II-dUTP) из набора DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit I (Roche, Швейцария), согласно инструкции производителя. Гибридизацию и проявление гибридизационных полос также проводили по инструкции указанной фирмы.

#### Секвенирование и филогенетический анализ

Для проведения ПЦР использовали ДНК-амплификатор (Bio-Rad). Дрожжевую ДНК выделяли по методике Lõoke и др. [25]. Для амплификации пектиназных генов *PGU1 S. cerevisiae* использовали праймеры *PGU11* (5'-CACATTGATGGACAACGCA-3')/*PGU12* (5'-AGGATTAACAGCTTGCACCA-3' ("Евроген", Россия).

ПЦР проводили в 30 мкл *Taq*-буфера Thermo Fisher Scientific (США), содержащего 2.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0.1 мМ каждого dNTP, 50 пмоль каждого праймера, 2.5 единицы *Taq*-полимеразы ("Синтол", Россия) и 20–200 нг ДНК по следующей схеме: начальная денатурация ДНК при 94°C в течение 4 мин, затем 35 циклов в режиме: денатурация при 94°C в течение 60 с, отжиг праймеров при 55°C в течение 60 с, синтез ДНК при 72°C в течение 120 с – и завершающая элонгация при 72°C в течение 10 мин. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1%-ном агарозном геле при 60–65 В в 0.5 × ТВЕ-буфере в течение 2–3 ч. Гель окрашивали бромистым этидием, промывали в дистиллированной воде и фотографировали в УФ-свете на трансиллюминаторе Vilber Lourmat (Vilber, Франция). В качестве маркера молекулярных масс использовали набор 1 kb DNA Ladder (Fermentas, Thermo Fisher Scientific).

Амплифицированные фрагменты элюировали из геля с помощью набора GeneJET Gel Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific), согласно протоколу фирмы-изготовителя. Нуклеотидные последовательности генов *PGU1* определяли по двум цепям с помощью прямого секвенирования по методу Сэнгера на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 (Applied Biosystems, США). Поиск гомологии с известными нуклеотидными последовательностями *PGU* проводили с помощью программы BLAST в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) и SGD (<http://www.yeastgenome.org/>). Множественные выравнивания изученных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей проводили с помо-

щью программы BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Филогенетические деревья строили методом "ближайшего соседа" (neighbor-joining) в программе MEGA 11 [26]. В качестве внешней группы использовали эндополигалактуроназу *Epg1* дрожжей *Kluveromyces marxianus* CBS 6566.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Пектинолитическая активность

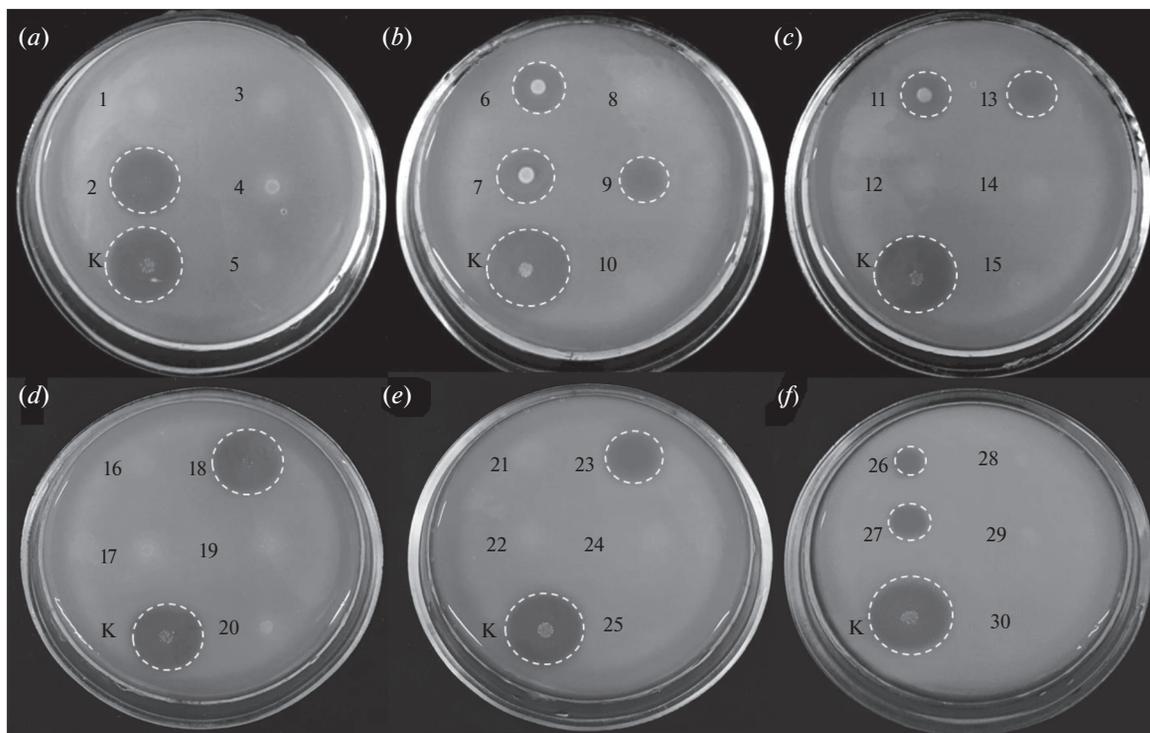
Пектинолитическую активность определяли у 305 изученных штаммов *S. cerevisiae*, выделенных из различных ферментационных процессов и природных источников. В зависимости от диаметра зон гидролиза полигалактуроновой кислоты, изученные штаммы были разделены на пять групп: 1) до 10 мм, 2) 10–15 мм, 3) 15–20 мм, 4) 20–25 мм, 5) >25 мм. Большинство изученных штаммов (249) не обладали пектинолитической активностью на PG-среде; они, в основном, были выделены из альпехина и природных источников (рис. 1, номера: 1, 3–5, 8, 10, 12, 14–17, 19–22, 24, 25, 28–30).

Пектинолитическая активность была выявлена у 56 штаммов, которые были распределены по 5 группам. В первую группу вошло три штамма: M212 (шампанское, Украина), сегреганты штаммов SBY 1880-6C (альпехин, Испания) и S11 F3-6B (винная пальма *Caryota urens*, Шри-Ланка).

Во вторую группу (10–15 мм) попали 15 штаммов различного происхождения (табл. 1). Большинство из них выделены из отходов оливкового производства в Испании и природных источников в разных регионах мира (табл. 1, рис. 1f). Только два штамма этой группы имеют винное происхождение: I-38 и I-419 (табл. 1).

Третья группа (15–20 мм) объединила в себе 21 штамм. Одиннадцать штаммов этой группы выделены в условиях виноделия, а остальные преимущественно из природных источников (табл. 1, рис. 1b, 1c, 1d).

Четвертую группу (20–25 мм) образовали 14 штаммов, одиннадцать из которых имеют винное происхождение (табл. 1). Среди последних наибольшей пектинолитической активностью обладали штаммы, выделенные из бродящего суслу в Таджикистане и на Украине: I-61 (зона гидролиза 23.6 мм), I-407 (23.6 мм), I-411 (24.2 мм), а также штамм КБП Y-5176 (24.1 мм), выделенный из винограда в Дагестане (табл. 1, рис. 1a). Активно гидролизуют пектин штаммы, выделенные из сокоотечения пальмы в Малайзии: UWO-PS 03-459-1-4D (23 мм), UWO-PS 03-461-1-8B (23 мм), а также штамм Dji2-2B (23.8 мм), выделенный из пальмового вина в Джибути (Восточная Африка) (рис. 1a, номер 2). Интересно отметить, что второй сегрегант африканского штамма (Dji2-2A) не обладал



**Рис. 1.** Скрининг штаммов *Saccharomyces cerevisiae* на наличие пектинолитической активности на содержащей полигалактуроновую кислоту среде: контрольный штамм *S. cerevisiae* ВКПМ Y-718 (K); (a): 1 – Ksc2-2B; 2 – Dji2-2B; 3 – Харьковская 39-5C; 4 – Харьковская 39-5B; 5 – Dji2-2A; (b): 6 – IGC 4591-4B; 7 – IGC 4591-4D; 8 – IGC 4541-3A; 9 – VKM Y-1553-3A; 10 – IGC 4546-2A; (c): 11 – IGC 4591-4B-2B; 12 – IGC 4593-1B; 13 – VKM Y-1554-2A; 14 – IGC 4544-2C; 15 – IGC 4586-4B; (d): 16 – NBRC 1811; 17 – T6-2B; 18 – T8-12B; 19 – U23-1B; 20 – U23-11B; (e): 21 – U23-11A; 22 – G16-5A; 23 – CBS 2910; 24 – D6-33; 25 – T12-51; (f): 26 – СЕСТ 10407-3-1:2B; 27 – СЕСТ 10485-6-3; 28 – T20-2A; 29 – СЕСТ 10538-4-3; 30 – СЕСТ 10540-5A. Пунктирной линией обозначены зоны гидролиза полигалактуроновой кислоты вокруг колоний дрожжей.

**Fig. 1.** Screening of *Saccharomyces cerevisiae* strains for the presence of pectinolytic activity on a medium containing polygalacturonic acid: reference strain of *S. cerevisiae* VKPM Y-718 (K); (a): 1 – Ksc2-2B; 2 – Dji2-2B; 3 – Charkov 39-5C; 4 – Charkov 39-5B; 5 – Dji2-2A; (b): 6 – IGC 4591-4B; 7 – IGC 4591-4D; 8 – IGC 4541-3A; 9 – VKM Y-1553-3A; 10 – IGC 4546-2A; (c): 11 – IGC 4591-4B-2B; 12 – IGC 4593-1B; 13 – VKM Y-1554-2A; 14 – IGC 4544-2C; 15 – IGC 4586-4B; (d): 16 – NBRC 1811; 17 – T6-2B; 18 – T8-12B; 19 – U23-1B; 20 – U23-11B; (e): 21 – U23-11A; 22 – G16-5A; 23 – CBS 2910; 24 – D6-33; 25 – T12-51; (f): 26 – СЕСТ 10407-3-1:2B; 27 – СЕСТ 10485-6-3; 28 – T20-2A; 29 – СЕСТ 10538-4-3; 30 – СЕСТ 10540-5A. Zones of polygalacturonic acid hydrolysis around yeast colonies are shown with dashed lines.

пектинолитической активностью (рис. 1a, номер 5). Это указывает на то, что исходный штамм Dji2 является гетерозиготным по гену *PGUI*.

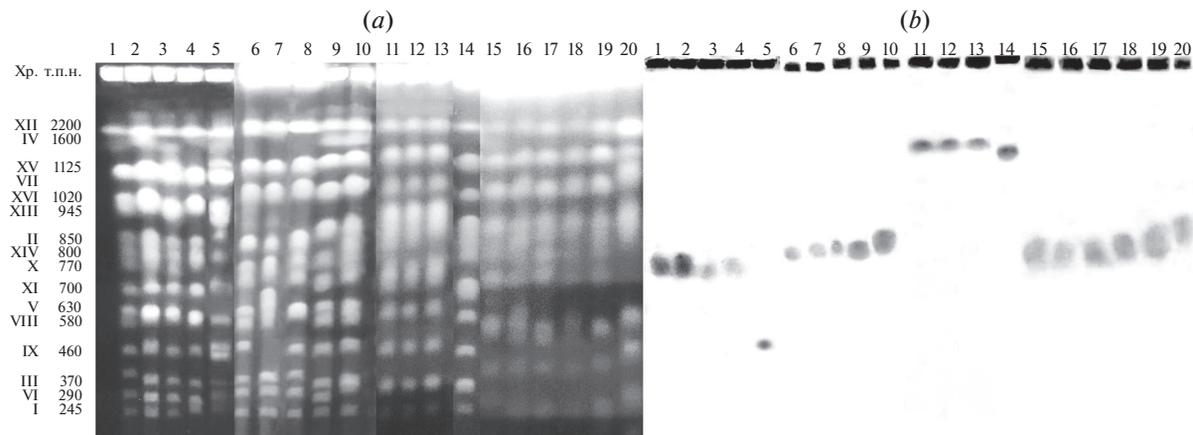
Наибольшую активность среди дрожжей *S. cerevisiae* имели три винных штамма (5 группа): T8-12B (зона гидролиза 26.8 мм), I-421 (25.3 мм) и I-438 (26.4 мм). Первый выделен из броющего сусла в Таджикистане, два другие – из спонтанно сброженного сусла в Ужгороде и Закарпатье (Украина). По степени эффективности гидролиза полигалактуроновой кислоты штаммы I-421 и T8-12B сопоставимы с контрольным штаммом *S. cerevisiae* ВКПМ Y-718 (27.0 мм). Последний штамм является экспериментально полученным полиплоидом винного штамма *S. cerevisiae* Кокур-3 и обладает высокой пектинолитической активностью [23].

У штаммов, не обладающих активностью на PG-среде, с помощью ПЦР-анализа было определено наличие гена *PGUI*, кодирующего эндопо-

лигалактуроназу, ПЦР-амплификация прошла у 230 штаммов. Часть амплифицированных последовательностей были секвенированы и в последовательности гена *PGUI* штамма SBY 1880-6B обнаружен стоп-кодон. Отсутствие пектинолитической активности у остальных штаммов, по-видимому, связано с мутациями в регуляторных генах. У 19 штаммов, не имеющих активности на PG-среде, *PGUI*-последовательности не были обнаружены.

#### Определение хромосомной локализации генов *PGUI* дрожжей *S. cerevisiae*

С помощью пульс-электрофореза нативных хромосомных ДНК и Саузерн-гибридизации была определена копияность и локализация генов *PGU* у 58 штаммов *S. cerevisiae*, обладающих различной пектинолитической активностью, в том числе 10 штаммов, не имеющих активности на PG-среде.



**Рис. 2.** Пульс-электрофорез (a) и Саузерн-гибридизация (b) хромосомной ДНК дрожжей *S. cerevisiae* с зондом *PGU1* штамма *S. cerevisiae* S288C. *S. cerevisiae*: 1 – YNN 295; 2 – I-65; 3 – I-38; 4 – I-61; 5 – I-411; 6 – SBY 1880-6B; 7 – SBY 1880-6C; 8 – ATCC 66812; 9 – Dji-2B; 10 – Dji-2A; 11 – UWO-PS 03-459-1-4D; 12 – UWO-PS 03-433-3-2D; 13 – UWO-PS 03-461-1-8B; 14 – UWO-PS 05-217-3; 15 – T8-12B; 16 – N38-4A; 17 – N37-1A; 18 – N39-7A; 19 – GIV-51; 20 – СЕСТ 10485-6-3. Нумерация и размеры хромосом приводятся согласно стандартному штамму *S. cerevisiae* YNN 295.

**Fig. 2.** Pulsed-field gel electrophoresis (a) and Southern-hybridization (b) of chromosomal DNA of the yeast *S. cerevisiae* with the *PGU1* probe of *S. cerevisiae* S288C. *S. cerevisiae*: 1 – YNN 295; 2 – I-65; 3 – I-38; 4 – I-61; 5 – I-411; 6 – SBY 1880-6B; 7 – SBY 1880-6C; 8 – ATCC 66812; 9 – Dji-2B; 10 – Dji-2A; 11 – UWO-PS 03-459-1-4D; 12 – UWO-PS 03-433-3-2D; 13 – UWO-PS 03-461-1-8B; 14 – UWO-PS 05-217-3; 15 – T8-12B; 16 – N38-4A; 17 – N37-1A; 18 – N39-7A; 19 – GIV-51; 20 – СЕСТ 10485-6-3. The order and sizes of chromosomes refer to the chromosomes of the control strain YNN 295.

У большинства изученных штаммов обнаружен один гибридационный сигнал на электрофоретической полосе размером около 770 т.п.н., что соответствует хромосоме X стандартного штамма *S. cerevisiae* YNN 295 (рис. 2).

У выделенных из нектара пальмы в Малайзии штаммов (UWO-PS 03-459-1-4D, UWO-PS 03-433-3-2D, UWO-PS 03-461-1-8B, UWO-PS 05-217-3) гибридационный сигнал располагался в районе хромосомной полосы размером 1125 т.п.н., что соответствует дуплету хромосом VII и XV штамма YNN 295 (рис. 2b, дорожки 11–14 и 1). Известно, что геномы этих штаммов характеризуются наличием нескольких хромосомных перестроек (реципрокные транслокации), которые затрагивают, в том числе и хромосому X, в субтеломерном районе которой располагается ген *PGU1* [27]. Другая хромосомная локализация гена *PGU1* обнаружена также у выделенного из спонтанно сброженного суслу штамма I-411: хромосома IX (460 т.п.н.) (рис. 2b, дорожка 5).

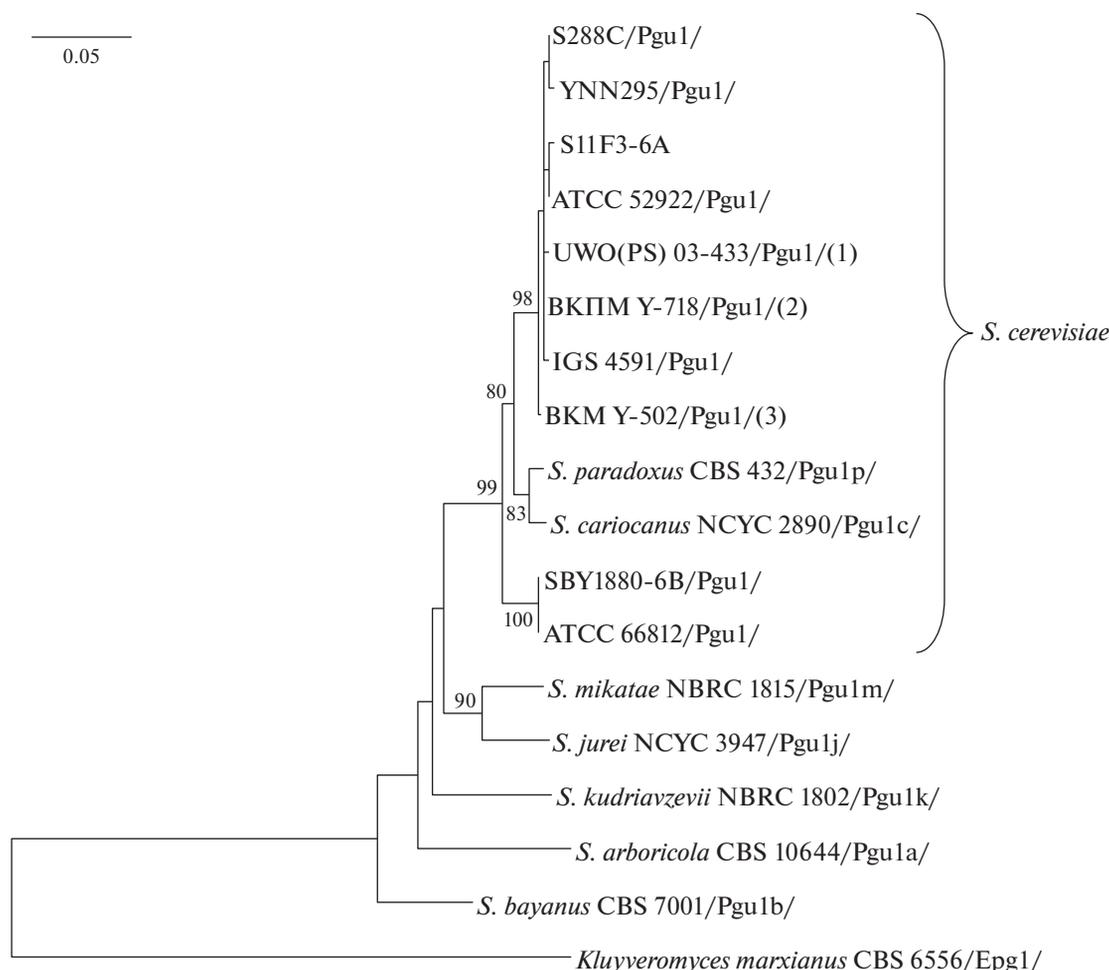
Из 10 штаммов, не имеющих активности на PG-среде, гибридационные сигналы не были обнаружены у трех: M435 (виноградное суло, Карпаты, Украина), CBS 7962 (забродивший сироп сахарного тростника, Бразилия) и СЕСТ 10484 (альпехин, Испания). У остальных 7 штаммов гибридационные сигналы были выявлены на хромосоме X (рисунок не приводится). При этом, псевдогены среди них не были обнаружены.

Таким образом, независимо от источника и места выделения, дрожжи *S. cerevisiae* обладают

одним пектиназным геном *PGU1*, расположенным в X хромосоме. Исключением являются четыре природных штамма выделенные в Малайзии и один штамм, выделенный в условиях виноделия в Закарпатье, гены *PGU1* которых расположены соответственно на VII/XV и IX хромосомах. Следует отметить, что все пять последних штаммов имеют высокую пектинолитическую активность (табл. 1).

#### Филогенетический анализ генов *PGU1* дрожжей *S. cerevisiae* и кодируемых ими аминокислотных последовательностей

Мы провели секвенирование генов *PGU1* у 26 штаммов *S. cerevisiae* различного происхождения и имеющих различную пектинолитическую активность. Нуклеотидные последовательности генов *PGU1* штаммов *S. cerevisiae* S288C и CBS1171 были взяты из компьютерной базы данных GenBank. Полученные нуклеотидные последовательности имели длину 1077 н., что покрывает большую часть кодирующей области гена *PGU1*. Сравнительный анализ показал, что штаммы *S. cerevisiae* с различной активностью на PG-среде имеют идентичные последовательности гена *PGU1* или отличаются 1–12 нуклеотидными заменами. Исключением являются штаммы SBY 1880-6B и ATCC 66812-5-3-4A (отходы производства оливкового масла), гены *PGU1* которых отличались между собой тремя нуклеотидными заменами, а отличия от *PGU1*-последовательностей остальных штаммов составили до 90 замен. При этом, первый штамм



**Рис. 3.** Филогенетический анализ аминокислотных последовательностей эндополигалактуроназ Pgu1 дрожжей *S. cerevisiae* и других видов рода *Saccharomyces*. В качестве внешней группы использована эндополигалактуроназа дрожжей *Kluveromyces marxianus*. Приводятся значения бутстрепа >70%. Шкала соответствует 50 аминокислотным заменам на 1000 аминокислотных позиций. Цифрами в скобках обозначены группы штаммов, имеющие идентичные аминокислотные последовательности: (1) – UWO-PS 03-459-1-4D, UWO-PS 03-461-1-8B, UWO-PS 05-217-3; (2) – CBS 1171, ВКПМ Y-4748, КБП Y-5176, КБП Y-5009, I-411, I-438, I-61, I-407, NCYC 2402, Dji2-2A, Dji2-2B, T8-12B, S11F3-6B, S11F3-6D; (3) – GIV51.

**Fig. 3.** Phylogenetic analysis of endopolygalacturonase amino acid sequences of *Saccharomyces cerevisiae* and other species of the genus *Saccharomyces*. Endopolygalacturonase of *Kluveromyces marxianus* (Epg1) was used as an outgroup. The tree shows bootstrap support values higher than 70%. The scale bar corresponds to 50 amino acid substitutions per 1000 amino acid positions. The numbers in brackets indicate groups of strains with identical amino acid sequences: (1) – UWO-PS 03-459-1-4D, UWO-PS 03-461-1-8B, UWO-PS 05-217-3; (2) – CBS 1171, VKPM Y-4748, KBP Y-5176, KBP Y-5009, I-411, I-438, I-61, I-407, NCYC 2402, Dji2-2A, Dji2-2B, T8-12B, S11F3-6B, S11F3-6D; (3) – GIV51.

не гидролизировал пектин, тогда как штамм ATCC 66812-5-3-4A обладал пектинолитической активностью (зона гидролиза 14.3 мм, вторая группа).

По полученным нуклеотидным последовательностям генов *PGU1* определены аминокислотные последовательности кодируемых ими белков. В анализ были включены эндополигалактуроназы остальных семи видов рода *Saccharomyces* (табл. 1). На основании анализа аминокислотных последовательностей было построено филогенетическое древо (рис. 3). В качестве внешней группы использовали эндополигалактуроназу Epg1 дрожжей *Kluveromyces marxianus*.

Первый кластер сформировали эндополигалактуроназы штаммов *S. cerevisiae* и близкородственных видов *S. paradoxus* и *S. cariocanus*, уровень сходства которых составил 95.5–97.6%. Штаммы *S. cerevisiae* имели практически идентичные Pgu1-последовательности: 99.2–100%. Исключение составляют дивергентные эндополигалактуроназы штаммов SBY 1880-6B и ATCC 66812-5-3-4A, имеющие 95.6–96.4% сходства с белками Pgu1 остальных штаммов *S. cerevisiae*.

Второй кластер объединяет сходные на 95.5% белки Pgu1m и Pgu1j дрожжей *S. mikatae* и *S. jurei*. Сходство которых с эндополигалактуроназами пер-

вого кластера составило 90.2–92.2%. К первому кластеру примыкают пектиназы видов *S. kudriavzevii* и *S. arboricola* (сходство 86.1%). Отдельное положение на филогенетическом дереве занимает дивергентная эндополигалактуроназа дрожжей *S. bayanus* CBS 7001: 86.3–88.6% сходства с остальными белками Pgu.

Результаты проведенного исследования и литературные данные [18–21] свидетельствуют о том, что способность гидролизовать пектин, в целом, не характерна для дрожжей вида *S. cerevisiae*. Из 305 изученных нами штаммов, только 56 обладали пектинолитической активностью. Всего нами было изучено более 160 штаммов *S. cerevisiae*, выделенных из ягод винограда, бродящего виноградного сула и вина. Из них только 26 штаммов обладали, в разной степени, пектинолитической активностью. В то же время, подавляющее большинство штаммов, отнесенных на основании диаметра зон гидролиза полигалактуроновой кислоты, к 4 и 5 группам, выделены в условиях виноделия (табл. 1).

Согласно литературным данным, штаммы *S. cerevisiae* обладают только одним геном *PGU1*, расположенным в X-хромосоме [18, 21, 22]. У изученных нами штаммов также обнаружено по одной копии гена *PGU1*, однако разной хромосомной локализации: хромосомы X, IX и дуплет хромосом VII/XV. Ранее нами было показано, что виды *S. cariocanus*, *S. paradoxus*, *S. kudriavzevii* и *S. arboricola* обладают одним геном *PGU*, расположенным в хромосоме X [20]. У видов *S. mikatae* и *S. jurei* имеется по две копии пектиназных генов, расположенных на X и VIII хромосомах. В то же время, для штаммов *S. bayanus* характерно наличие трех копий разной хромосомной локализации: *PGU1b* (хромосома X), *PGU2b* (I) и *PGU3b* (XIV) [20, 28, 29].

Масштабный скрининг пектинолитической активности у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* различного происхождения позволил обнаружить штаммы, которые обладают высокой пектинолитической активностью: UWO (PS) 03-459-1-4D, UWO (PS) 03-461-1-8B, DJi2-2B, I-61, I-407, I-411, КБП Y-5176, T8-12B, I-421 и I-438. Указанные штаммы представляют интерес для дальнейших молекулярно-генетических исследований и селекционных работ с винными дрожжами.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа проведена в рамках выполнения Государственного задания НИЦ “Курчатовский Институт”.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Van Rensburg P., Pretorius I.S. Enzymes in winemaking: harnessing natural catalysts for efficient biotransformations. *S. Afr. J. Enol. Viticult.*, 2000, 21(1), 52–73. <https://doi.org/10.21548/21-1-3558>
2. Moore J.P., Fangel J.U., Willats W.G.T., Vivier M.A. Pectic-β(1,4)galactan, extensin and arabinogalactan – protein epitopes differentiate ripening stages in wine and table grape cell walls. *Ann. Bot.*, 2014, 114, 1279–1294. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu053>
3. Fasoli M., Dell’Anna R., Dal Santo S., Balestrini R., Sanson A., Pezzotti M., Monti F., Zenoni S. Pectins, hemicelluloses and celluloses show specific dynamics in the internal and external surfaces of grape berry skin during ripening. *Plant Cell Physiol.*, 2016, 57(6), 1332–1349. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw080>
4. Marković O., Janeček Š. Pectin degrading glycoside hydrolases of family 28: sequence-structural features, specificities and evolution. *Protein Eng. Des. Sel.*, 2001, 14(9), 615–631. <https://doi.org/10.1093/protein/14.9.615>
5. Jayani R.S., Saxena S., Gupta R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. *Process Biochem.*, 2005, 40, 2931–2944. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.026>
6. Yang Y., Yu Y., Liang Y., Anderson C.T., Cao J. A profusion of molecular scissors for pectins: classification, expression, and functions of plant polygalacturonases. *Front. Plant Sci.*, 2018, 9, 1208. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01208>
7. Louw C., La Grange D., Pretorius I.S., van Rensburg P. The effect of polysaccharide-degrading wine yeast transformants on the efficiency of wine processing and wine flavor. *J. Biotechnol.*, 2006, 125, 447–461. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.03.029>
8. Belda I., Conchillo L. B., Ruiz J., Navascués E., Marquina D., Santos A. Selection and use of pectinolytic yeasts for improving clarification and phenolic extraction in winemaking. *Int. J. Food Microbiol.*, 2016, 223, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.02.003>
9. Rollero S., Zietsman A.J.J., Buffetto F., Schückel J., Ortiz-Julien A., Divol B. *Kluyveromyces marxianus* secretes a pectinase in Shiraz grape must that impacts technological properties and aroma profile of wine. *J. Agric. Food Chem.*, 2018, 66, 11739–11747. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03977>
10. Tufariello M., Fragasso M., Pico J., Panighel A., Castellarin S. D., Flamini R., Grieco F. Influence of non-*Saccharomyces* on wine chemistry: a focus on aroma-related compounds. *Molecules*, 2021, 26, 644–666. <https://doi.org/10.3390/molecules26030644>
11. Pretorius I.S. Tasting the terroir of wine yeast innovation. *FEMS Yeast Res.*, 2020, 20, foz084. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foz084>
12. Takeyama M.M., de Carvalho M.C., Carvalho H.S., Silva C.R., Uetanabaro A.P.T., da Costa A.M., Evaristo J.A.M., Nogueira F.C.S., Fai A.E.C., Koblitz M.G.B. Pectinases secretion by *Saccharomyces cerevisiae*: optimization in solid-state fermentation and identification by a shotgun proteomics approach. *Molecules*, 2022, 27, 4981. <https://doi.org/10.3390/molecules27154981>
13. Blanco P., Sieiro C., Villa T.G. Production of pectic enzymes in yeasts. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1999, 175(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13595.x>
14. Fernández-González M., Ubeda J.F., Cordero-Otero R.R., Thanvanthri Gururajan V., Briones A.I. Engineering of an oenological *Saccharomyces cerevisiae* strain with pectinolytic activity and its effect on wine. *Int. J. Food*

- Microbiol.*, 2005, 102(2), 173–83.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.012>
15. Naumov G.I., James S.A., Naumova E.S., Louis E.J., Roberts I.N. Three new species in the *Saccharomyces sensu stricto* complex: *Saccharomyces cariocanus*, *Saccharomyces kudriavzevii* and *Saccharomyces mikatae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2000, 50(Pt. 5), 1931–1942.  
<https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1931>
  16. Vaughan-Martini A., Martini A. *Saccharomyces* Meyen ex Reess (1870). In: *The Yeasts: A Taxonomic Study*, 5th edn. Eds Kurtzman C.P., Fell J.W., Boekhout T. Amsterdam, Elsevier, 2011, 2, 733–746.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00061-617>
  17. Naseeb S., James S.A., Alsammar H., Michaels C.J., Gini B., Nueno-Palop C., Bond C.J., McGhie H., Roberts I.N., Delneri D. *Saccharomyces jurei* sp. nov., isolation and genetic identification of a novel yeast species from *Quercus robur*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2017, 67, 2046–2052.  
<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002013>
  18. Divol B., Rensburg P. *PGU1* gene natural deletion is responsible for the absence of endo-polygalacturonase activity in some wine strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.*, 2007, 7, 1328–1339.  
<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2007.00284.x>
  19. Louw C., Young P.R., van Rensburg P., Divol B. Epigenetic regulation of *PGU1* transcription in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.*, 2010, 10, 158–167.  
<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00599.x>
  20. Наумова Е.С., Боровкова А.Н., Шаламитский М.Ю., Наумов Г.И. Природный полиморфизм пектиназных генов *PGU* дрожжей рода *Saccharomyces*. *Микробиология*, 2021, 90(3), 344–356.  
<https://doi.org/10.31857/S0026365621030113>
  21. Fernández-González M., Úbeda J.F., Vasudevan T.G., Cordero Otero R.R., Briones A.I. Evaluation of polygalacturonase activity in *Saccharomyces cerevisiae* wine strains. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2004, 237, 261–266.  
<https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.06.042>
  22. Louw C., Young P.R., van Rensburg P., Divol B. Epigenetic regulation of *PGU1* transcription in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.*, 2010, 10, 158–167.  
<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00599.x>
  23. Имишенецкий А.А., Кондратьева Т.Ф., Линькова М.А., Датунашвили Е.Н., Бурьян Н.И., Покровская С.С., Скорикова Т.К., Сониная Е.Г. Полиплоидный штамм дрожжей *Saccharomyces vini*, используемый для приготовления столовых вин. Патент RU 1495368, опубл. 23.07.1989, Бюлл. № 27.
  24. Naumov G.I., Naumova E.S., Gaillardin C. Genetic and karyotypic identification of wine *Saccharomyces bayanus* yeasts isolated in France and Italy. *Syst. Appl. Microbiol.*, 1993, 16(2), 274–279.  
[https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80480-7](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80480-7)
  25. Lõoke M., Kristjuhan K., Kristjuhan A. Extraction of genomic DNA from yeasts for PCR based applications. *Biotechniques*, 2011, 50, 325–328.  
<https://doi.org/10.2144/000113672>
  26. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.*, 2021, 38(7), 3022–3027.  
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
  27. Yue J.-X., Li J., Aigrain L., Hallin J., Persson K., Oliver K., Bergström A., Coupland P., Warringer J., Lagomarsino M.C., Fischer G., Durbin R., Liti G. Contrasting evolutionary genome dynamics between domesticated and wild yeasts. *Nat. Gen.*, 2017, 49(6), 913–924.  
<https://doi.org/10.1038/ng.3847>
  28. Наумов Г.И., Шаламитский М.Ю., Наумова Е.С. Новое семейство пектиназных генов *PGU1b–PGU3b* у пектинолитических дрожжей *Saccharomyces bayanus* var. *ivarum*. *ДАН*, 2016, 467(1), 109–111.  
<https://doi.org/10.7868/S0869565216070276>
  29. Наумова Е.С., Шаламитский М.Ю., Наумов Г.И. Молекулярный полиморфизм пектиназных генов *PGU* дрожжей *Saccharomyces bayanus* var. *ivarum*. *Биотехнология*, 2019, 35(2), 30–37.  
<https://doi.org/10.21519/0234-2758-2019-35-2-30-37>

## Comparative Genetic Analysis of Pectinase Genes *PGU* of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*: Selection of Strains with High Pectinolytic Activity

A. N. Borovkova<sup>a</sup>, M. Yu. Shalamitskiy<sup>b</sup>, and E. S. Naumova<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Kurchatov Institute National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, 123182 Russia

<sup>b</sup>All-Russian National Institute for Vine and Winemaking “Magarach”, Russian Academy of Sciences, Yalta, 298600 Russia

<sup>\*</sup>e-mail: lena\_naumova@yahoo.com

**Abstract**—A large-scale screening of pectinolytic activity of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from different types of wines, grape berries, fermenting must, fruit and berry juices, as well as from natural sources and industrial wastes in different regions of the world was carried out. Of the 305 strains studied, the majority (249) did not produce active endopolygalacturonase. According to the results obtained, the ability to hydrolyze pectin is generally not characteristic of *S. cerevisiae* species. Regardless of the source and site of isolation, *S. cerevisiae* strains have a single pectinase gene *PGU1*, usually located on the X chromosome. Another chromosomal localization of *PGU1* genes, chromosomes VII/XV and IX, was found only in four strains isolated from fermented palm sap in Malaysia and wine strain I-411 (Transcarpathia, Ukraine). Ten strains of *S. cerevisiae* with the highest pectinolytic activity were selected, which are of interest for further molecular genetic studies and breeding work with wine yeasts.

**Keywords:** wine yeasts, *Saccharomyces cerevisiae*, endopolygalacturonase, pectinase, yeast pectinase, *PGU* genes, chromosomal mapping