

УДК 636.087.24

Маннопротеины и их выделение из дрожжевых клеток

Д-р техн. наук Т. В. МЕЛЕДИНА¹, М. Н. КУНЦОВА¹,
канд. биол. наук С. Г. ДАВЫДЕНКО², Д. В. МАНЬШИН¹

¹Университет ИТМО

²ООО «Пивоваренная компания «Балтика»

E-mail: maria.kuntsova@mail.ru

Маннопротеины входят в состав клеточных стенок и определяют их ферментативную активность и структурно-механические свойства. Несмотря на незначительное содержание в них белка, именно белок участвует в организации архитектуры клеточной стенки взаимодействуя с глюканами и хитином. Тип гликозилирования белков важен как для проявления функциональной активности, так и для выбора методов экстракции МП из клеточных стенок. Среди многообразия способов освобождения клеток от цитоплазмы наилучшим признан автолиз дрожжей, осуществляемый внутриклеточными ферментами. Выбор технологии выделения маннопротеинов определяется эффективностью процесса. Наибольший выход МП получен при ферментативном гидролизе. Однако установлено, что другие, менее эффективные методы, позволяют получить фрагменты с важными функциональными свойствами, которые успешно используются в пищевой промышленности, медицине и животноводстве. В зависимости от молекулярной массы и соотношения белок/маннан препараты проявляют антимикробные и пребиотические свойства используются в качестве парaproбиотиков с антимикробными и пребиотическими свойствами. Их можно использовать в качестве биоconсервантов в продуктах питания, для профилактики и лечения некоторых заболеваний.

Ключевые слова: маннопротеины, клеточная стенка, экстракция, функциональный ингредиент, энология, аквакультура, медицина.

Информация о статье:

Поступила в редакцию 23.01.2023, одобрена после рецензирования 02.03.2023, принята к печати 10.03.2023

DOI: 10.17586/1606-4313-2023-22-2-75-81

Язык статьи — русский

Для цитирования:

Меледина Т. В., Кунцова М. Н., Давыденко С. Г., Маньшин Д. В. Маннопротеины и их выделение из дрожжевых клеток. // Вестник Международной академии холода. 2023. № 2. С. 75–81. DOI: 10.17586/1606-4313-2023-22-2-75-81

Mannoproteins and their isolation from yeast cells

D. Sc. T. V. MELEDINA¹, M. N. KUNTSOVA¹,

Ph. D. S. G. DAVYDENKO², D. V. MANSHIN¹

¹ITMO University

²Baltika Breweries

E-mail: maria.kuntsova@mail.ru

Mannoproteins (MP) are the part of cell walls and determine their enzymatic activity and structural and mechanical properties. Despite the insignificant content of protein in them, it is the protein that participates in the organization of the architecture of the cell wall by interacting with glucans and chitin. The type of glycosylation of proteins is important both for the manifestation of functional activity and for the choice of methods for extracting MP from cell walls. Among the variety of ways to release cells from the cytoplasm, yeast autolysis carried out by intracellular enzymes is recognized as the best. The choice of technology for the isolation of mannoproteins is determined by the efficiency of the process. The highest yield of MP was obtained by enzymatic hydrolysis. However, it has been established that other less effective methods make it possible to obtain fragments with important functional properties that are successfully used in the food industry, medicine, and animal husbandry. Depending on the molecular weight and the protein/mannan ratio, the drugs exhibit antimicrobial and prebiotic properties and are used as paraprobiotics with antimicrobial and prebiotic properties. They can be used as bioconservants in food as well as for the prevention and treatment of certain diseases.

Keywords: mannoprotein, yeast cell wall, extraction, functional ingredients, enology, aquaculture, medicine.

Article info:

Received 23/01/2023, approved after reviewing 02/03/2023, accepted 10/03/2023

DOI: 10.17586/1606-4313-2023-22-2-75-81

Article in Russian

For citation:Meledina T. V., Kuntsova M. N., Davydenko S. G., Manshin D. V. Mannoproteins and their isolation from yeast cells. *Journal of International Academy of Refrigeration*. 2023. No 2. p. 75–81. DOI: 10.17586/1606-4313-2023-22-2-75-81**Введение**

Маннопротеины (МП) входят в состав клеточной стенки (КС) дрожжей. Они признаны неспецифическими иммуностимуляторами, что проявляется в антимикробной, противовирусной и противоопухолевой активности [1]–[3]. Также, были подтверждены их антимутагенные, антиоксидантные свойства [4, 5] и эффективность при заживлении ран [6]. Поэтому маннопротеины представляют собой ценное биологически активное сырье для фармацевтической промышленности [7]–[9].

Следует отметить широкий спектр реологических свойств МП (вязкость, эластичность, пластичность, упругость, адгезия), которые делают их привлекательными в пищевой промышленности, в частности, в виноделии и в масложировой промышленности [10]–[13]. Благодаря обнаруженным у МП антимикробным свойствам эти соединения могут использоваться в качестве биоинтервантов в пищевых продуктах. В животноводстве МП рассматриваются как заменители антибиотиков [2]. Кормовая добавка Agrimos®, содержащая маннопротеины и глюканы из *Saccharomyces cerevisiae*, применяются при искусственном разведении аквакультур [14].

Отмечается, что не только выделенные из КС маннопротеины, но и их комплексы с глюканом могут быть востребованы в пищевой, фармацевтической и пищевой индустриях [15, 16].

В связи с тем, что в настоящее время актуально прогнозируемое выделение из дрожжей маннопротеинов с известным химическим составом для целевого применения в пищевых продуктах и медицине, обзор методов выделения МП и сравнения их эффективности является своевременным. Для разработки технологии МП из дрожжей необходимо знать химический состав КС и виды связи между маннанами, глюканами и хитином, образующими архитектуру поверхности дрожжей.

Химический состав маннопротеинов

Маннопротеины (МП) являются структурным компонентом клеточной стенки дрожжей (КС). На их долю, в зависимости от природы дрожжей и условий культивирования, приходится от 30 до 50% сухой массы КС [17]. МП состоят из полисахарида маннозы (95%) и белков (5%), которые, в основном, представлены ферментами [18]. Большая часть белков клеточной стенки гликозилированы. Известны 3 типа гликозилирования белков [19].

1. *O*-маннозилирование. В этом случае короткие неразветвленные маннозные цепи, состоящие из 3–5 остатков маннозы, связанных между собой α -1,3 и α -1,2 связями, присоединены к молекуле белка при помощи *O*-гликозидной связи между остатком маннозы и гидроксильной группой серина или треонина. Эта связь разрушается при действии слабого раствора (до 10%)

щелочи. Количество маннозы, присоединенной к белкам таким способом может составлять около 12% от общего числа маннозных остатков в маннопротеинах клеточной стенки дрожжей.

2. *N*-маннозилирование. В этом случае разветвленные маннозные цепи, содержащие до 200 остатков маннозы, присоединяются к белку при помощи *N*-гликозидной связи между остатком *N*-ацетилглюкозамина и β -амидным азотом аспарагина [20]. *N*-гликозидсвязанный полисахарид стабилен в щелочи, но может быть удален под действием специфических ферментов, например, с помощью эндогликозидазы, которая расщепляет аспарагин-связанные богатые маннозой олигосахариды.

3. *Гликозилфосфоинозитольный якорь (GPI-якорь)*. GPI-якорь присоединен к белку через фосфоэтаноламин нередуцирующим концом полисахаридной цепочки [21, 22]. С помощью GPI-якоря МП непосредственно связаны с β -1,3-глюканом и косвенно с β -1,6-глюканом и хитином [23]. Эти связи достаточно легко разрушаются в щелочах [24], а белок, который имеет молекулярную массу около 100 кДа, можно частично удалить химическим или ферментативным путем [25].

Типы гликозилирования белков клеточной стенки дрожжей показаны на рис. 1.

Таким образом, в КС существуют щелочно-чувствительные маннопротеины (Pir-CWP) и экстрагируемые с помощью ферментов, или химических реагентов, гликозилфосфатидилинозитол-белки — GPI-CWP [26]. GPI-CWP и Pir-CWP отличаются друг от друга тем, что первые прикрепляются к внутреннему β -1,3-глюкановому каркасу через β -1,6-глюкан, в то время как вторые присоединяются к β -1,3-глюкану напрямую без промежуточного связывания с β -1,6-глюканом [17, 27].

Приведенные выше сведения важны для обоснования выбора технологии целевого извлечения МП из КС.

Биосинтез маннопротеинов

Биосинтез МП представляет сложный многоступенчатый процесс, в котором задействованы различные клеточные структуры [28]. Например, *O*-связанное гликозилирование инициируется в эндоплазматическом ретикулуме; удлинение маннозной цепи происходит в аппарате Гольджи [20]. Маннопротеины доставляются к плазматической мембране путем слияния пузырьков, образующихся в аппарате Гольджи [29]. Установлена связь между метаболической активностью митохондрий и составом клеточной стенки *S. cerevisiae* [30], следовательно, тип энергетического обмена дрожжей будет влиять на толщину клеточной стенки и ее химический состав.

Подробно биология и биосинтез КС рассматривается в обзоре [31].

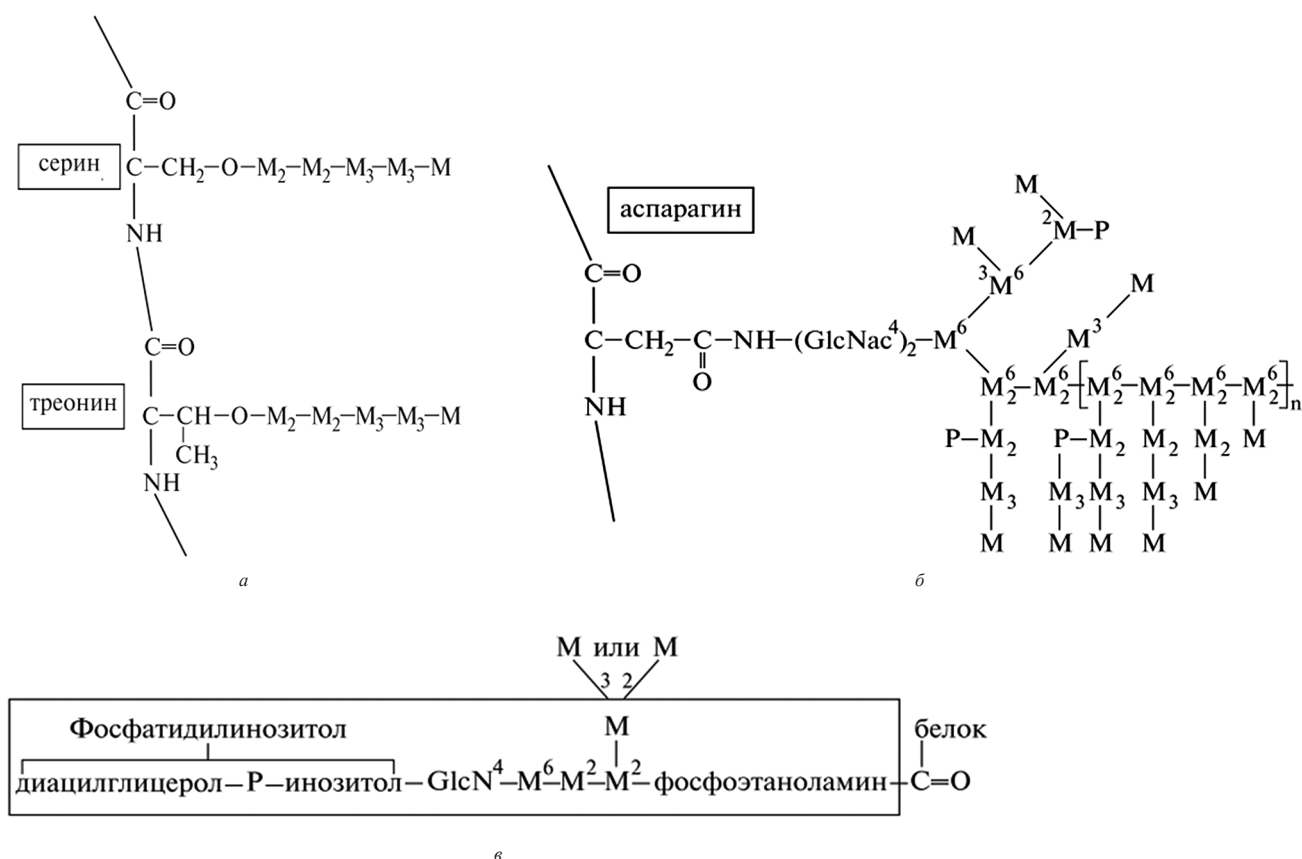


Рис. 1. Типы гликозилирования белков клеточной стенки дрожжей: а — структура O-связанных олигосахаридных цепей; б — структура N-связанных олигосахаридных цепей; в — структура GPI-якоря (M — манноза, GlcN — глюкозамин, P — фосфор)
 Fig. 1. Types of glycoylizing the proteins of yeast cell walls: а — structure of O-bonded oligosaccharide chains; б — structure of N-bonded oligosaccharide chains; в — структура GPI-anchor (M — mannose, GlcN — glucosamine, P — phosphorous)

Методы получения КС дрожжей

Первостепенной задачей при получении биологически активных препаратов из клеточных стенок (β-глюканов, МП и хитина) является максимальное удаление из дрожжей цитоплазматического содержимого (цитоплазмы), при этом важно сохранить биологическую ценность отдельных фрагментов структурных полисахаридов. Для деструкции дрожжей используют как механические, так и немеханические методы воздействия на клетки [32]–[35] (рис. 2).

Механические методы, такие как измельчение бисером, представляющим собой шарики диаметром от 0,05 до 5 мм, обработка ультразвуком или гомогенизация под высоким давлением широко используются в промышленности [36] и направлены, в основном, на полное разрушение клеток.

Немеханические процедуры подразделяются на физические (например, термолиз, осмотический шок, а возможно и антиоксидантный стресс), химические и ферментативные (включая экзолиз и автолиз) методы [23, 37].

Следует отметить, что большинство исследований по разрушению микроорганизмов сосредоточены на выделении из них внутриклеточных продуктов, а не клеточных стенок [38], поэтому для выбора наиболее эффективного способа получения КС необходимо сравнить существующие методы деструкции дрожжей.

Как правило, оценка способов воздействия на клетки осуществляется методом прямой микроскопии. Для наблюдения за морфологическими изменениями, происходящими в клетках после их деструкции, рекомендуется использовать метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) или сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) [39]. Иногда изучают физические свойства суспензии, состоящей из клеточных фрагментов, в частности, определяют распределение частиц по размерам и вязкость среды [35].

Количественно степень отделения цитоплазмы от КС можно определять по формуле

$$R = \frac{W_0 - W}{W} \times 100,$$

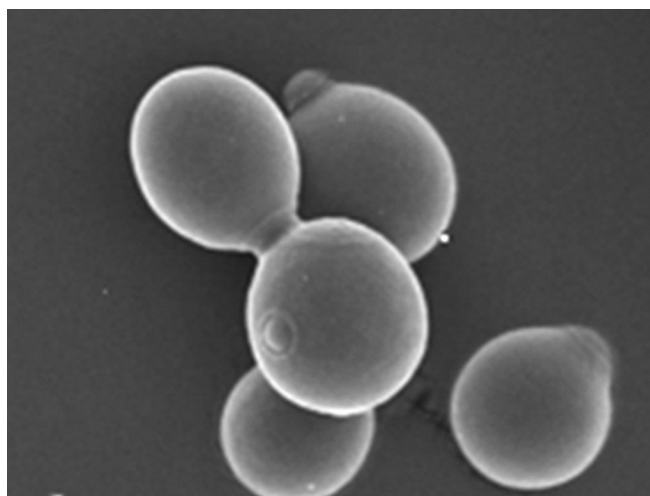
где R — эффективность деструкции клеток (в случае автолиза это коэффициент эффективности автолиза), %; W₀ — сухое вещество в 1 мл суспензии до разрушения, г АСВ/мл; W — сухое вещество в 1 мл суспензии, оставшееся после разрушения дрожжевой клетки, г АСВ/мл.

В работе [33] Bzducha-Wróbel A. с соавт. проведено сравнение различных методов разрушения дрожжей, таких как экстракция горячей водой (автоклавирование), термически индуцированный автолиз, разрушение клеток с помощью бисерной мельницы, обработка ультразвуком, а также комбинации этих методов, на чистоту полученных препаратов. Экспериментальные системы готовились на воде (pH 5,0 и pH 7,0) и трис-НСl-буфере

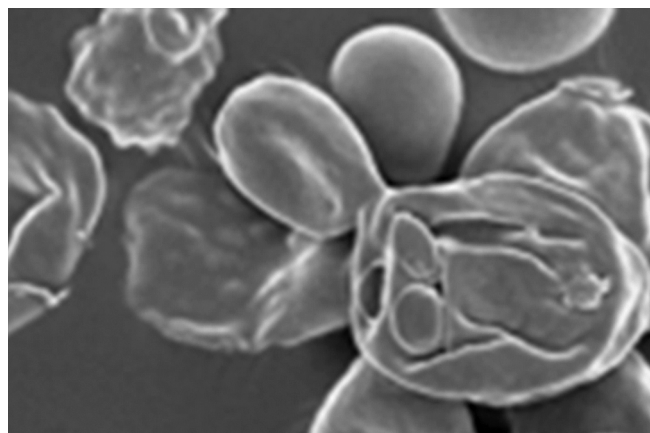


Рис. 2. Методы разрушения дрожжей

Fig. 2. Methods of yeast decomposition



а



б

Рис. 3. Изменение морфологии клеток после автолиза:
а — интактные клетки; б — клетки после автолиза

Fig. 3. Changes in cell morphology after autolysis: a — intact cells; б — cells after autolysis

(рН 8,0). Обнаружено, что наиболее эффективно отделение клеточных стенок от цитоплазматического содержимого происходит при автолизе [33]. Позже, другими исследователями было показано, что после автолиза клеточные стенки остаются неповрежденными (рис. 3) [23]. Однако следует иметь в виду, что автолиз является ферментативным процессом, в котором задействованы внутриклеточные ферменты (фосфолипазы, протеиназы, рибонуклеазы и др.), и следовательно эффективность его, как любого ферментативного процесса, будет зависеть от температуры, рН и концентрации клеток в суспензии, а также физиологического состояния дрожжей.

Методы экстракции маннотеинов из клеточных стенок

В литературных источниках приведены данные по выходу МП при различных способах их извлечения из КС: термическая обработка клеточных стенок, использование ферментативного гидролиза, экстракция додецилсульфатом натрия (SDS), щелочная экстракция, механическое разрушение КС ультразвуком [1, 26, 40–43]. Для выделения МП из дрожжей предлагается использовать импульсные электрические поля [44]. В табл. 1 приведены данные по выходу МП, полученные при использовании некоторых из этих методов. Результаты анализа показали, что термическая обработка, экстракция додецилсульфатом натрия (SDS) и механическое разрушение характеризуются низким выходом МП. Стоит отметить, что SDS-метод может являться предварительной экстракцией, чтобы разрушить дисульфидные мостики и облегчить последующий выход МП фракций.

Метод механического разрушения КС при помощи ультразвука был признан не эффективным. Кислотно-щелочная экстракция показала хорошие результаты по сравнению с физическими методами воздействия на клеточную стенку, выход МП составлял 11,89%. Однако при

Таблица 1

Сравнение методов экстракции

Table 1

Comparison of the extraction methods

Метод	Выход МП, %	Источник
Кислотно-щелочной	11,89	[40]
Термический	5,40±0,07	[1]
SDS	0,98	[26]
Ферментативный (Novozymes®)	4,16	[43]
Ферментативный (Zymolyase®)	13,92–34,45	[26]
Механическое разрушение КС	1,8	[42]

кислотно-щелочной обработке изменяется структура самого маннопротеина, что не происходит при других видах обработки.

По заключению Li J, Karboune S. ферментативный подход, основанный на использовании препарата Zymolyase®, обладающего высокой β -1,3-глюканазной активностью, является наиболее эффективным. Эти авторы также определили, что количество экстрагируемого из КС маннопротеина зависит от условий ферментализации. Так, увеличение расхода Zymolyase с 67 до 167 ед. β -1,3-глюканазы на 1 г КС повышает выход МП с 13,92 до 34,45% [26]. Однако, обращает на себя внимание, что другие исследователи [43] при использовании того же ферментного препарата получили практически такой же результат по извлечению МП, как и при использовании термической обработки КС [1].

Это можно объяснить тем, что выход, а также и структурные свойства маннопротеинов зависят не только от метода их извлечения, но также и от видового и химического состава дрожжей. Известно, что условия культивирования клеток влияют на структуру клеточных стенок, их толщину и эластичность, а также на количество экзоферментов, которые участвуют в первоначальной подготовке КС во время автолиза биомассы. В связи с этим, имеются противоречивые данные по эффективности извлечения МП одним и тем же способом (табл. 1).

Количество и состав полученных дериватов и соотношение в них между маннаном и белком определяются штаммовыми особенностями дрожжей. Так, при термической обработке пивных и пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* выделены нековалентно связанные маннопротеины (6,5 кДа), которые отличались по величине соотношением маннан/белок: для пивных дрожжей это отношение составляло 0,63, для пекарских 2,78. При экстракции МП с помощью додецилсульфата натрия в основном высвобождаются негликозилированные белки. При ферментативной обработке клеточных стенок ферментным препаратом Зимолиза (Zymolyas) извлекаются ковалентно связанные маннопротеины, которые характе-

ризовались более высоким, по сравнению с фрагментами МП при термической экстракции, соотношением маннан/белок (13,1 — пивные дрожжи, 42,7 — пекарские дрожжи) и более широким распределением молекулярной массы (от 5 до 10 кДа; от 10 до 100 кДа; от 100 до 400 кДа) [45]. Установлено, что при использовании менее эффективного, с точки зрения выхода клеточных стенок, метода автоклавирования биомассы, получены фракции маннопротеинов с молекулярной массой от 1,9 до 150 кДа, которые отличались по антимикробным и пробиотическим свойствам [2]. В других исследованиях показано, что МП с молекулярной массой 78 кДа могут быть рекомендованы для профилактики ожирения [46].

Елена Сербя с соавт. показала, что можно получить БАВ из белков клеточной стенки без предварительного отделения ее от цитоплазмы. С помощью различных ферментных коктейлей, в состав которых входили β -глюканаза, маннанназа, бактериальные и грибные протеазы, были выделены пептиды с молекулярной массой 20–60 кДа, менее 14 кДа и короткие пептиды с массой 300 Да [47].

Заключение

Доказана перспективность использования маннопротеинов в различных областях пищевой промышленности, медицине, животноводстве и при разведении аквакультур. Биосинтез МП определяется штаммовыми особенностями дрожжей и условиями их культивирования. Количество и структурная характеристика, выделяемых из клеток маннопротеинов, зависит от способа получения клеточных стенок и метода экстракции. Функциональные и техно-функциональные свойства определяются не способом извлечения маннопротеинов из клеток, а молекулярной массой фрагментов, поэтому необходим тщательный структурный анализ полученных очищенных препаратов, а также установление их целевого использования. В тоже время, в пищевой промышленности, когда добавка имеет технологическое назначение, нет необходимости тщательного разделения структурных полисахаридов на фракции.

Литература/References

1. Liu H. Z., Liu L., Hui H., Wang Q. Structural characterization and antineoplastic activity of *saccharomyces cerevisiae* mannoprotein. *International Journal of Food Properties*. 2015;18:359–71. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.81936>.
2. Bzducha Wróbel A., et al. Antimicrobial and prebiotic activity of mannoproteins isolated from conventional and nonconventional yeast species — the study on selected microorganisms. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2022;38:256.

3. Yehia R. S., Saleh A. M., Bani Ismail M., Al-Quraishy S., Al-Amri O., Abdel-Gaber R. Isolation and characterization of anti-proliferative and anti-oxidative mannan from *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of King Saud University*. 2022;34:101774. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101774>.
4. Liu Y., Huang G. The derivatization and antioxidant activities of yeast mannan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;107:755–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.055>.
5. Chiselița N., Chiselița O., Beșliu A., Efremova N., Tofan E., Sprincean A., et al. Biochemical Composition and Antioxidant Activity of Different Preparations from Microbial Waste of the Beer Industry. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology*. 2022;26:139–46. <https://doi.org/10.2478/auft-2022-0011>.
6. Yoon B. H., Lee S. M., Chang H.-I., Ha C. H. Mannoproteins from *Saccharomyces cerevisiae* stimulate angiogenesis by promoting the akt-eNOS signaling pathway in endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2019;519:767–72. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.09.069>.
7. Liu Y., Wu Q., Wu X., Algharib S. A., Gong F., Hu J., et al. Structure, preparation, modification, and bioactivities of β -glucan and mannan from yeast cell wall: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;173:445–56. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.125>.
8. Harbah R., Meledina T. V., Manshin D. V., Andreev V. V. Mannan: structure, biosynthesis, and methods extraction from yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal International Academy of Refrigeration*. [Вестник Международной академии холода]. 2021. No 1. P. 59–65. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2021-20-1-59-65>.
9. Tang N., Wang X., Yang R., Liu Z., Liu Y., Tian J., et al. Extraction, isolation, structural characterization and prebiotic activity of cell wall polysaccharide from *Kluyveromyces marxianus*. *Carbohydrate Polymers*. 2022;289:119457. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119457>.
10. Caridi A. Enological functions of parietal yeast mannoproteins. Antonie van Leeuwenhoek. *International Journal of General and Molecular Microbiology*. 2006;89:417–22. <https://doi.org/10.1007/s10482-005-9050-x>.
11. de Iseppi A., Marangon M., Vincenzi S., Lomolino G., Curioni A., Divol B. A novel approach for the valorization of wine lees as a source of compounds able to modify wine properties. *LWT*. 2021;136:110274. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110274>.
12. Seo S., Karboune S., L'Hocine L., Yaylayan V. Characterization of glycosylated lysozyme with galactose, galactooligosaccharides and galactan: Effect of glycation on structural and functional properties of conjugates. *LWT — Food Science and Technology*. 2013;53:44–53. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.001>.
13. Li J., Karboune S. Characterization of the composition and the techno-functional properties of mannoproteins from *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell walls. *Food Chemistry*. 2019;297. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.141>.
14. Mohamed K., Megahed ME, Ali MAM. Effect of dietary supplementation of Agrimos® on growth performance, feed utilization and immunological parameters of *Macrobrachium rosenbergii* juveniles. *Aquaculture International*. 2017;25:1441–52. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0123-4>.
15. Wheatcroft R. Production of β -glucan-mannan preparations by autolysis of cells under certain pH, temperature and time conditions. US6444448B1, 2002.
16. Sedmak J. J. Production of beta-glucans and mannans. US8753668B2, 2014.
17. Klis F. M., Boorsma A., de Groot P. W. J. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 2006;23:185–202. <https://doi.org/10.1002/yea.1349>.
18. Liu H., Li Y., Shi A., Hu H., Sheng X., Liu L., et al. Rheological characteristics and chain conformation of mannans obtained from *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;107:2404–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.126>.
19. Jentoft N. Why are proteins O-glycosylated? *Trends Biochem Sci* 1990;15:291–4. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(90\)90014-3](https://doi.org/10.1016/0968-0004(90)90014-3).
20. Lehle L., Tanner W. Chapter 7 Protein Glycosylation in Yeast, 1995, p. 475–509. [https://doi.org/10.1016/S0167-7306\(08\)60601-8](https://doi.org/10.1016/S0167-7306(08)60601-8).
21. Nuoffer C., Horvath A., Riezman H. Analysis of the sequence requirements for glycosylphosphatidylinositol anchoring of *Saccharomyces cerevisiae* Gas1 protein. *Journal of Biological Chemistry*. 1993;268:10558–63. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)82235-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)82235-9).
22. Fujita M., Kinoshita T. GPI-anchor remodeling: Potential functions of GPI-anchors in intracellular trafficking and membrane dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2012;1821:1050–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2012.01.004>.
23. Wang J., Li M., Zheng F., Niu C., Liu C., Li Q., et al. Cell wall polysaccharides: before and after autolysis of brewer's yeast. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 2018;34. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2508-6>.
24. Sanz A., García R., Rodríguez-Peña J., Arroyo J. The CWI Pathway: Regulation of the Transcriptional Adaptive Response to Cell Wall Stress in Yeast. *Journal of Fungi*. 2017;4:1. <https://doi.org/10.3390/jof4010001>.
25. Ha C. H. et al. Preparation and analysis of yeast cell wall mannoproteins, immune enhancing materials, from cell wall mutant *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2006;16:247–55.
26. Li J., Karboune S. A comparative study for the isolation and characterization of mannoproteins from *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell wall. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;119:654–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.102>.
27. Smits G. J., van den Ende H., Klis F. M. Differential regulation of cell wall biogenesis during growth and development in yeast. vol. 147. 2001.
28. Lobsanov Y. D., Romero P. A., Sleno B., Yu B., Yip P., Herscovics A., et al. Structure of Kre2 p/Mnt1 p. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279:17921–31. <https://doi.org/10.1074/jbc.M312720200>.
29. Bony M., Barre P., Blondin B. Distribution of the flocculation protein, Flop, at the cell surface during yeast growth: The availability of Flop determines the flocculation level. *Yeast*. 1998;14:25–35. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0061\(19980115\)14:1<25::AID-YEA197>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0061(19980115)14:1<25::AID-YEA197>3.0.CO;2-C).
30. Iung A. R., Coulon J., Kiss F., Ekome J. N., Vallner J., Bonaly R. Mitochondrial Function in Cell Wall Glycoprotein Synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 625 (Wild Type) and [*rho*⁰] Mutants. *Applied and Environmental Microbiology*. 1999;65:5398–402. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.12.5398-5402.1999>.
31. Lesage G., Bussey H. Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2006;70:317–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00038-05>.

32. Klimek-Ochab M., Brzezińska-Rodak M., Żymańczyk-Duda E., Lejczak B., Kafarski P. Comparative study of fungal cell disruption — scope and limitations of the methods. *Folia Microbiol.* (Praha) 2011;56:469–75. <https://doi.org/10.1007/s12223-011-0069-2>.
33. Bzducha-Wróbel A., Błażej S., Kawarska A., Stasiak-Różańska L., Gientka I., Majewska E. Evaluation of the Efficiency of Different Disruption Methods on Yeast Cell Wall Preparation for β -Glucan Isolation. *Molecules.* 2014;19:20941–61. <https://doi.org/10.3390/molecules191220941>.
34. Liu D., Zeng X.-A., Sun D.-W., Han Z. Disruption and protein release by ultrasonication of yeast cells. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 2013;18:132–7. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.006>.
35. Geciova J., Bury D., Jelen P. Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry — a review. *International Dairy Journal.* 2002;12:541–53. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00038-9).
36. Walther C., Dürauer A. Microscale disruption of microorganisms for parallelized process development. *Biotechnol. J.* 2017;12:1600579. <https://doi.org/10.1002/biot.201600579>.
37. Ene I. V., Walker L. A., Schiavone M., Lee K. K., Martin-Yken H., Dague E., et al. Cell Wall Remodeling Enzymes Modulate Fungal Cell Wall Elasticity and Osmotic Stress Resistance. *MBio.* 2015;6. <https://doi.org/10.1128/mBio.00986-15>.
38. Klimek-Ochab M., Brzezińska-Rodak M., Żymańczyk-Duda E., Lejczak B., Kafarski P. Comparative study of fungal cell disruption — scope and limitations of the methods. *Folia Microbiol.* (Praha) 2011;56:469–75. <https://doi.org/10.1007/s12223-011-0069-2>.
39. Hernawan T., Fleet G. Chemical and cytological changes during the autolysis of yeasts. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.* 1995;14:440–50. <https://doi.org/10.1007/BF01573955>.
40. Kath F., Kulicke W.-M. Polymer analytical characterization of glucan and mannan from yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie.* 1999;268:69–80. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-9505\(19990701\)268:1<69::AID-APMC69>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-9505(19990701)268:1<69::AID-APMC69>3.0.CO;2-D).
41. Pitarch A., Nombela C., Gil C. Cell Wall Fractionation for Yeast and Fungal Proteomics. 2008. p. 217–39. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-210-0_19.
42. Snyman C., Nguela J. M., Sieczkowski N., Marangon M., Divol B. Optimised extraction and preliminary characterisation of mannoproteins from non-saccharomyces wine yeasts. *Foods.* 2021;10. <https://doi.org/10.3390/foods10050924>.
43. Silva Araujo V. B. da, Melo A. N. F. de, Costa A. G., Castro-Gomez R. H., Madruga M. S., Souza E. L. de, et al. Followed extraction of β -glucan and mannoprotein from spent brewer's yeast (*Saccharomyces uvarum*) and application of the obtained mannoprotein as a stabilizer in mayonnaise. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 2014;23:164–70. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.12.013>.
44. Martinez J. M., Delso C., Maza M. A., Álvarez I., Raso J. Pulsed electric fields accelerate release of mannoproteins from *Saccharomyces cerevisiae* during aging on the lees of Chardonnay wine. *Food Research International.* 2019;116:795–801. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.013>.
45. Li J., Karboune S., Asehrou A. Mannoproteins from inactivated whole cells of baker's and brewer's yeasts as functional food ingredients: Isolation and optimization. *Journal of Food Science.* 2020;85:1438–49. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15054>.
46. Li X., Wu J., Kang Y., Chen D., Chen G., Zeng X., et al. Yeast mannoproteins are expected to be a novel potential functional food for attenuation of obesity and modulation of gut microbiota. *Front Nutr.* 2022;9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1019344>.
47. Serba E. M., Rimareva L. V., Kurbatova E. I., Volkova G. S., Polyakov V. A., Varlamov V. P. The study of the process of enzymatic hydrolysis of yeast biomass to generate food ingredients with the specified fractional composition of protein substances. *Problems of Nutrition.* 2017;86:76–83.

Сведения об авторах

Меледина Татьяна Викторовна

Д. т. н., профессор факультета биотехнологий Университета ИТМО, 191 002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9; tatiana.meledina@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-7485-2802; Author ID: 381 606; SPIN-код: 5771–8409.

Кунцова Мария Николаевна

Магистрант, инженер факультета биотехнологий Университета ИТМО, 191 002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9, maria.kuntsova@mail.ru; ORCID: 0000-0001-6341-8824; Author ID: 1 098 772; SPIN-код: 6671–2008.

Давыденко Светлана Геннадьевна

К. б. н., ООО «Пивоваренная компания «Балтика», 194292, Санкт-Петербург, 6-й Верхний пер., 3, davydenko@baltika.com; ORCID: 0000-0001-8005-4743; Author ID: 124651; SPIN-код: 8235–9281.

Маншин Дмитрий Викторович

Аспирант, заведующий лабораторией факультета биотехнологий Университета ИТМО, 191 002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9, dvmanshin@itmo.ru; ORCID: 0000-0003-0287-0758; Author ID: 1 064 629; SPIN-код: 5094–9490.

Information about authors

Meledina Tatyana V.

D. Sc., Professor of the Faculty of BioTech of ITMO University, 191 002, Russia, St. Petersburg, Lomonosov str., 9; tatiana.meledina@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-7485-2802; Author ID: 381 606; SPIN-код: 5771–8409.

Kuntsova Maria N.

Undergraduate, Engineer of the Faculty of BioTech of ITMO University, 191 002, Russia, St. Petersburg, Lomonosov str., 9; maria.kuntsova@mail.ru; ORCID: 0000-0001-6341-8824; Author ID: 1 098 772; SPIN-код: 6671–2008.

Davydenko Svetlana G.

Ph. D., Baltika Breweries, Russia, 194292, Saint Petersburg, 6th Upper lane, 3; davydenko@baltika.com; ORCID: 0000-0001-8005-4743; Author ID: 124651; SPIN-код: 8235–9281.

Manshin Dmitry V.

Postgraduate, Head of the laboratory of the Faculty of BioTech of ITMO University, 191 002, Russia, St. Petersburg, Lomonosov str., 9; dvmanshin@itmo.ru; ORCID: 0000-0003-0287-0758; Author ID: 1 064 629; SPIN-код: 5094–9490.

