

Дрожжи – продуценты глутатиона

Т. В. Меледина¹, А. А. Морозов^{1,*}, С. Г. Давыденко², Г. В. Терновской³



¹ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО»,
197101, Россия, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

² ООО «Пивоваренная компания «Балтика»,
194292, Россия, Санкт-Петербург, 6 Верхний пер., 3

³ ООО «РУСХЛЕБ»,
197350, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лётчика Паршина, 5

Дата поступления в редакцию: 31.10.2019
Дата принятия в печать: 23.03.2020

*e-mail: artemamor@mail.ru



© Т. В. Меледина, А. А. Морозов, С. Г. Давыденко, Г. В. Терновской, 2020

Аннотация.

Введение. Дрожжи – быстрорастущие одноклеточные организмы, а также недорогой источник различных биологически активных веществ, включая глутатион (GSH) – один из важных антиоксидантов. Антиоксидантные свойства обуславливаются наличием сульфгидрильной группы. Мировая потребность в глутатионе по оценкам экспертов в 2019 году превысит 9 млрд. долларов США за счет продажи не только чистого кристаллизованного глутатиона, но и дрожжевых экстрактов, обогащенных глутатионом. В статье проведен анализ отечественных и зарубежных исследований по содержанию глутатиона в дрожжах, способах его биосинтеза и антиоксидантных свойствах.

Результаты и их обсуждение. В диких штаммах дрожжей содержание глутатиона колеблется от 0,1 до 1 % на абсолютно сухую биомассу (АСБ). В основе ферментативного способа накопления глутатиона лежат оптимизация питательной среды и использование прекурсоров глутатиона (цистеина, глутаминовой кислоты и глицина). Применение данного способа в определенных условиях культивирования позволяет двукратно увеличить содержание внутриклеточного глутатиона. Использование методов ненаправленного мутагенеза способно увеличить синтез глутатиона до 5 % в отдельных мутантных штаммах, хотя механизм синтеза в таких условиях не всегда полностью понятен. Однако при направленном изменении генома образуется, например, 2,27 % глутатиона на АСБ. Кроме того, уровень глутатиона в клетках возрастает под действием некоторых физических факторов. Например, при воздействии на дрожжи магнитного поля наблюдается повышение биосинтеза глутатиона на 39 %.

Выводы. В результате проведенного обзора литературы в статье продемонстрировано влияние технологических характеристик культивирования, а также биотехнологических свойств дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на процесс накопления глутатиона.

Ключевые слова. Грибы, *Saccharomyces cerevisiae*, олигопептиды, культивирование, антиоксидантная активность

Для цитирования: Дрожжи – продуценты глутатиона / Т. В. Меледина, А. А. Морозов, С. Г. Давыденко [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2020. – Т. 50, № 1. – С. 140–148. DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-140-148>.

Review article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Yeasts as a Glutathione Producer

T.V. Meledina¹, A.A. Morozov^{1,*}, S.G. Davydenko², G.V. Ternovskoy³

¹ ITMO University,
49, Kronverksky Ave., St. Petersburg, 197101, Russia

² LLC Baltika Breweries,
3, 6 Verkhnij Lane, St. Petersburg, 194292, Russia

³ LLC RusHleb,
5, Lyotchika Parshina Str., St. Petersburg, 197350, Russia

Received: October 31, 2019
Accepted: March 03, 2020

*e-mail: artemamor@mail.ru



© T.V. Meledina, A.A. Morozov, S.G. Davydenko, G.V. Ternovskoy, 2020

Abstract.

Introduction. Yeast is a fast-growing single-celled microorganism and an inexpensive source of various biologically active substances, such as antioxidants, e.g. Glutathione (GSH). Antioxidant properties are determined by the presence of sulfhydryl group. The global demand for glutathione is estimated to exceed 9 billion USD at the expense not only of pure crystalized glutathione, but also of glutathione-enriched yeast extracts. In the food industry, glutathione is used to improve the quality of the dough and enhance the taste of various products. The present research featured domestic and foreign studies on the content of glutathione in yeast, methods of biosynthesis, and antioxidant properties.

Results and discussion. The content of glutathione ranges from 0.1 to 1% per completely dry biomass (CDB) in wild yeast strains. The fermentative method for the accumulation of glutathione is based on the optimization of the nutrient medium and the use of glutathione precursors, i.e. cysteine, glutamic acid, and glycine. Thus, this method makes it possible to double the content of intracellular glutathione in certain cultivation conditions. The use of non-directed mutagenesis methods can increase glutathione synthesis up to 5% in separate mutant strains, although the mechanism of synthesis is not always clear under such conditions. However, up to 2.27% of glutathione is being formed under directed change of the genome. In addition, the level of glutathione in cells increases under the influence of certain physical factors. For example, glutathione biosynthesis increases by 39% if yeast is exposed to a magnetic field. The enzymatic method requires maintaining the following factors: the presence of precursors (L-glutamic acid, L-cysteine, glycine), ATP, Mg²⁺ ions to activate GSH1 and GSH2, the pH of the medium, and the introduction of the necessary enzymes into the bioreactor. However, this method is non-economically profitable in large scale productions due to the needs in use ATP.

Conclusion. The survey research demonstrated the effect of technological characteristics of cultivation and biotechnological properties of *Saccharomyces cerevisiae* on the accumulation of glutathione.

Keywords. Fungi, *Saccharomyces cerevisiae*, oligopeptides, cultivation, antioxidative activity

For citation: Meledina TV, Morozov AA, Davydenko SG, Ternovskoy GV. Yeasts as a Glutathione Producer. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(1):140–148. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-140-148>.

Введение

В течение последних десятилетий особый исследовательский интерес вызывают дрожжи. Они содержат множество ценных питательных веществ как для человека, так и для животных. Дрожжевые автолизаты являются своеобразными концентратами водорастворимых компонентов дрожжей, полученных при самолизисе дрожжевой клетки. В состав таких автолизатов входят аминокислоты, пептиды, углеводы и минеральные вещества. Автолизаты активно применяются в пищевой промышленности как вкусоароматические добавки в различных категориях продуктов и питании животных. Дрожжевые автолизаты считаются перспективными стимуляторами роста растений за счет содержания в них различных ростовых соединений (тиамин, рибофлавин, никотиновая кислота, пиридоксин и другие витамины группы В), цитокинов и многих других питательных веществ [1]. По данным С.-Л. Chang и Т.-Н. Као, применение спиртовых экстрактов остаточных пивных дрожжей на модельных животных позволяет бороться с ожирением, уменьшать уровень триглицеридов в печени и сыворотки крови, повышать антиоксидантную активность в печени [2].

К сожалению, существует недостаток литературных данных касающихся антиоксидантной активности дрожжевых автолизатов, которая формируется за счет глутатиона.

Открытие глутатиона связывают с исследованием J. de Rey-Paihade (1888 г.), в ходе которого он был получен из дрожжевого экстракта, а также животных тканей. Тогда соединение получило название «филотион» (philothion) [3]. Предполагалось, что «филотион» является дипептидом, образованным

из цистеина и глутамина. Свое название глутатион получил в 1921 г. благодаря исследованиям Ф. Г. Хопкинса [3]. В 1927 году обнаружилось, что глутатион не дипептид, а трипептид. Однако не был идентифицирован содержащийся в нем глицин. Только в 1929 г. удалось доказать, что третьей аминокислотой, входящей в состав трипептида, является глицин [4].

В течение полувека глутатион был обнаружен во всех клетках животных, растений, микроорганизмов в миллимолярных концентрациях [3, 5, 6]. В литературе имеются данные о содержании глутатиона в некоторых свежих фруктах и овощах. Также есть сведения о деградации глутатиона в процессе термической обработки [7].

Из-за своих физиологических свойств глутатион широко применяется в фармакологии, пищевой промышленности и в косметических продуктах для обеспечения, к примеру, защиты против окислительного разрушения. По оценкам экспертов, мировое ежегодное производство чистого кристаллизованного глутатиона и дрожжевых экстрактов (15 % GSH), обогащенных глутатионом, превышает 200 и 800 тонн соответственно. Ожидается, что в 2019 году объем продаж превысит 9 млрд. долларов США [32].

В пищевой промышленности глутатион используется для улучшения качества теста, усиления вкуса «кокуми», предотвращения окрашивания продуктов, вызванного аминокарбонильной реакцией при нагревании сахаров с аминокислотами. В настоящее время очищенный глутатион также применяется в медицине в борьбе с раковыми заболеваниями [5]. Дрожжи-сахаромицеты являются дешевым источником этого соединения [8].

Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили научные публикации, посвященные вопросам увеличения содержания глутатиона в дрожжевых клетках вида *Saccharomyces cerevisiae*. Основным методом исследований стал сравнительный анализ данных отечественных и зарубежных ученых по содержанию глутатиона и методам его накопления в дрожжах.

Результаты и их обсуждение

Синтез и деградация глутатиона. Глутатион образуется посредством двух ферментативных реакций в цитозоле:

Синтез γ -Глу-Цис из аминокислот *L*-цистеина и *L*-глутаминовой кислоты, катализируемой γ -глутамилцистеин синтетазой, γ -GCS (кодируется геном *GSH1*), для функционирования которого необходимо присутствие ионов Mg^{2+} или Mn^{2+} [9, 10]. В *S. cerevisiae* ген *GSH1*, содержащий 2034 спаренных оснований (base pair), кодирует Gsh1p из 678 аминокислотных остатков;

Синтез глутатиона из γ -Глу-Цис и глицина катализируется глутатион синтетазой (*L*- γ -глутамилцистеин-глицин γ -лигазой) (кодируется *GSH2*) [11].

Большая часть глутатиона остается в цитозоле, но некоторая часть обнаруживается в таких органеллах, как митохондрии, ядре, эндоплазматическом ретикулуме и вакуолях.

При чрезмерном накоплении глутатиона происходит ингибирование γ -GCS. В организме человека недостаток глутатион-синтазы вызывает чрезмерное накопление γ -глутамилцистеина, который переходит в 5-оксипролин (пироглутаминовая кислота), что может вызвать метаболический ацидоз, гемолитическую анемию и поражение центральной нервной системы [10].

Обе стадии являются АТФ-зависимыми. В синтез глутатиона вовлечены два транскрипционных фактора Met4p и Yap1p [6].

Известно, что многие организмы и при отсутствии Gsh1 и Gsh2 способны производить глутатион, что предполагает наличие других путей синтеза. Недавно в бактериях был обнаружен единственный бифункциональный фермент γ -глутамилцистеин синтетазы/глутатион синтетазы (γ -GCS-GS или GshF, кодируемая *gshF*), способный осуществлять синтез глутатиона [37].

Деградация глутатиона происходит под действием γ -глутамилтранспептидазы (γ -ГТ, Cis2, Ecm38), являющейся единственным ферментом, разрушающим глутатион за счет переноса γ -глутамильной группы глутатиона и других соединений с данной функциональной группы до образования аминокислот [33].

Предполагается, что конечной ступенью деградации глутатиона является действие *L*-цистеинил-глицин-дипептидазы (Dug1), катализи-

рующей распад *L*-цистеинил-глицина до соответствующих аминокислот.

Экспрессия гена *CIS2* регулируется источником азота. В присутствии ионов аммония происходила репрессия гена *CIS2*. Следует отметить, что при азотном голодании происходит индуцирование γ -ГТ. Для восполнения потребности в азоте происходит релокация более 90% глутатиона в центральную вакуоль. То же происходит и в том случае, если глутатион является единственным источником серы [6].

Обобщенная схема синтеза и деградации глутатиона представлена на рисунке 1, где в качестве источника серы для синтеза глутатиона может служить метионин, цистеин, гомоцистеин. Также глутатион может быть включен в клетку непосредственно из внеклеточного пространства за счет высокоаффинного переносчика GSH-P₁ и низкоаффинного переносчика GSH-P₂.

В клетке глутатион обычно представлен восстановленной (GSH, более 90 %) и окисленной

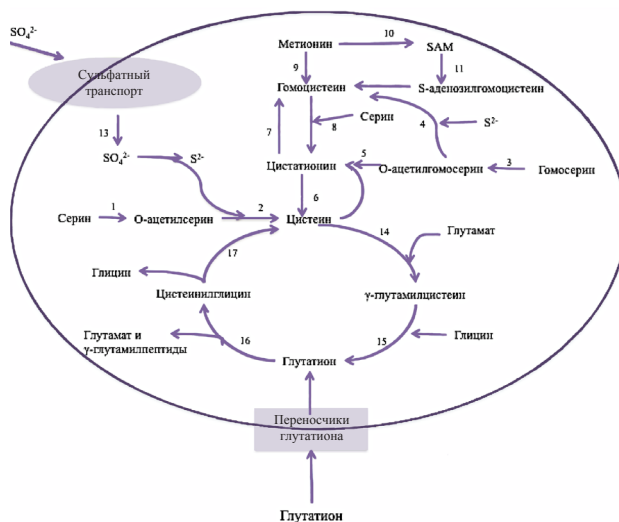


Рисунок 1. Схема синтеза и деградации глутатиона:

- 1) серин ацетилтрансфераза; 2) цистеин синтаза;
- 3) гомосерин ацетилтрансфераза; 4) гомоцистеин синтаза;
- 5) γ -цистатионин синтаза; 6) γ -цистатионаза;
- 7) β -цистатионаза; 8) β -цистатионин синтаза;
- 9) гомоцистеин метилтрансфераза; 10) S-аденозилметионин синтаза; 11) S-аденозилметионин деметилаза;
- 12) аденозилгомощестеиназа; 13) сульфатредуцирование;
- 14) γ -глутаминцистеин синтаза; 15) глутатион синтаза;
- 16) γ -глутамилтранспептидаза;
- 17) *L*-цистеинил глицин дипептидаза [6]

Figure 1. Scheme of the synthesis and degradation of glutathione:

- 1) serine acetyltransferase; 2) cysteine synthase;
- 3) homoserine acetyltransferase; 4) homocysteine synthase;
- 5) γ -cystathionine synthase; 6) γ -cystathionase;
- 7) β -cystathionase; 8) β -cystathionine synthase; 9) homocysteine methyltransferase;
- 10) S-adenosylmethionine synthase; 11) S-adenosylmethionine demethylase; 12) adenosyl homocysteinease; 13) sulfate reduction;
- 14) γ -glutamine cysteine synthase; 15) glutathione synthase;
- 16) γ -glutamyltranspeptidase; 17) *L*-cysteinyl glycine dipeptidase [6]

(GSSG, около 10 %) формами. Окисление GSH приводит к образованию GSSG, который может быть восстановлен в присутствии НАДФН(H⁺) под действием глутатион редуктазы, кодируемой *GLR1* [12].

Дрожжи как продуценты глутатиона. Известны различные способы биосинтеза глутатиона [8]. В основе одного из способов (энзиматический с применением ферментов) лежит поддержание следующих факторов: наличие прекурсоров (*L*-глутаминовой кислоты, *L*-цистеина, глицина), АТФ, ионов Mg²⁺ для активации *GSH1* и *GSH2*, pH среды, а также внесение в биореактор необходимых ферментов. Для протекания процесса оптимальными являются температура 30–35 °С и pH 7,3–7,5 [39]. Необходимость применения АТФ делает энзиматический способ более сложным для масштабирования из-за экономической нецелесообразности. Низкая активность *GSH1* и *GSH2* является лимитирующим фактором в биосинтезе глутатиона, что потребовало применения методов генной инженерии.

Альтернативным и наиболее часто используемым методом является ферментативный способ с применением различных микроорганизмов, в основном *S. cerevisiae* и *Candida utilis*, из-за их способности к быстрому росту и образованию высоких концентраций клеток в среде.

Дикие штаммы *S. cerevisiae* содержат от 0,1 до 1 % глутатиона на сухую биомассу. В пивоваренных дрожжах уровень глутатиона колеблется от 0,6 до 1,0 % [15]. Применение различных мутантных штаммов позволяет увеличить содержание до 3–5 %. Наиболее высоким содержанием глутатиона является 9,5 % [13].

Применяются различные пути накопления глутатиона в дрожжах: использование мутагенных штаммов с высокой накопительной способностью к глутатиону, внесение аминокислот-прекурсоров [23, 34].

Преимуществами ферментативного метода получения глутатиона является получение более высоких концентраций – до 9 г/л [32]. Использование различных углеводов-содержащих субстратов является наиболее изученным и применимым, в отличие от использования прекурсоров, удорожающих готовый продукт.

Рассматривалось влияние источников азота на синтез глутатиона дрожжами. Сульфат аммония, являясь источником как азота, так и серы, необходим для увеличения плотности биомассы и образования глутатиона [23].

Немаловажным фактором при производстве глутатиона является не только оптимизация питательной среды, включая добавление различных источников питательных веществ, но и, к примеру, момент добавления прекурсоров [19–22]. Хоть сахара и являются основным субстратом (как источник углерода), применение *L*-цистеина является

ключевым в производстве глутатиона [13]. Наличие цистеина значительно увеличивает внутриклеточную концентрацию глутатиона [35].

Добавление цистеина в экспоненциальную фазу замедляет рост клеток за счет появления эффекта Кребтра из-за того, что образование этанола ведет к подавлению цикла трикарбоновых кислот. Внесение *L*-цистеина в стационарную фазу положительно сказывается на содержании глутатиона (1,76 % на СВ) [23]. Имеет значение также и дозировка внесения *L*-цистеина [24].

W. Li и др. предлагают применять двухступенчатую реакцию, при которой на первой ступени добавляют необходимые прекурсоры, за исключением глицина, для образования только γ -глутамилцистеина. На второй ступени (через 7,5 часов от начала культивирования) добавляют глицин для образования глутатиона [14]. Приведенные данные позволяют судить о том, что применение двухступенчатой реакции повышает выход глутатиона почти в 2 раза, в сравнении с одноступенчатой, при которой 3 аминокислоты-прекурсоры добавляются одновременно [14].

Следующей важной особенностью является контроль концентрации этанола. В эксперименте S. Wen с соавторами показано, что в условиях введения в среду прекурсоров и при низкой концентрации спирта (0,08–0,65 %) происходит большее накопление глутатиона дрожжами и биомассы – 2190 мг/л и 133 г/л соответственно [36].

При сверхэкспрессии *GSH1/GLR1* происходит двукратное увеличение содержания внутриклеточного глутатиона и более высокое образование этанола, чем у диких штаммов: 14 г/л и 8,2 г/л соответственно [16].

Для получения мутантных штаммов применяются физический и химический методы мутагенеза: УФ, X- и γ -излучения, метилнитронитрозогуанидин и др. Главной проблемой случайных мутаций является непредсказуемость и неконтролируемость.

G. M. Hamad и др. получили мутацию дрожжей *S. cerevisiae* посредством использования этилметансульфоната [17]. Один из мутантных штаммов (MG40/S.C/4) был способен производить в 49 раз больше глутатиона по сравнению с исходным штаммом.

Z.-Y. Wang с соавторами показал, что самоклонирование пивоваренных дрожжей приводит к 1,9-кратному увеличению содержания глутатиона в штамме T5-3. Содержание глутатиона наблюдалось как внутри клетки, так и в культуральной жидкости [18].

В исследовании L. Tang и др. рекомбинантный штамм W303-1b/FGP способен накопить 2,27 % внутриклеточного глутатиона после 24 ч брожения [37]. Особенностью данного штамма служит применение

метода независимой или комбинаторной генетической интеграции, где два искусственно рекомбинантных фермента GSH2/GSH1 *S. cerevisiae*, гибрид Pro1/GSHB *S. cerevisiae* и *E. coli* и ресинтезированный GSHF *Actinobacillus pleuro-pneumoniae* были введены в геном *S. cerevisiae*.

Применение различных физико-химических методов также позволяет влиять на выход глутатиона (например, воздействие магнитных полей). Так, L. O. Santos и др., воздействуя магнитным полем на штамм *S. cerevisiae* ATCC 7754, добились увеличения содержания глутатиона на 39 % по сравнению с необработанными дрожжевыми клетками [25].

Также отмечается, что при хранении как сухих, так и пресованных дрожжей, происходит увеличение содержания глутатиона в зависимости от сроков хранения [26, 27].

Антиоксидантная роль глутатиона. Окислительный стресс – неизбежная часть жизни в аэробных условиях. Потребность в кислороде приводит к образованию активных форм кислорода (АФК). Увеличение окислительного стресса в клетке приводит к изменению/повреждению различных веществ клетки. Это приводит к нарушению функциональной способности и гибели клетки [10, 28].

В обычных условиях АФК и активные формы азота (АФА) участвуют в редокс-сигналинге, регулирующих активность важных для клетки белков, жизненно важных процессов (рост, клеточные циклы, апоптоз) [29]. Процессы редокс-сигналинга могут протекать во всех участках клетки, вовлекая различные редокс-пары. Интересующей нас парой является пара GSH/GSSG [38].

Главным функциональным элементом в молекуле глутатиона является остаток аминокислоты цистеина, имеющей реакционноспособную сульфгидрильную группу (тиольную группу). При переходе из восстановленной формы в окисленную глутатион подвергается S-глутатионированию – процесс образования дисульфидной связи между остатками цистеина белка и молекулы GSH. Данный процесс позволяет защитить клетку от окислительного стресса [30].

Важным моментом является обратимость окисления остатков цистеина. Катализатором реакция тиол-

дисульфидного обмена *in vivo* являются специализированные белки – глутаредоксины. Незначительные изменения в тиол-дисульфидном равновесии могут привести к гибели клетки, поэтому для отражения общего редокс-статуса клетки используют соотношение GSSG/2GSH, которое составляет для клетки 1 к 100, изменяясь при различных процессах.

В митохондриальном матриксе *S. cerevisiae* редокс-потенциал равен –296 мВ, в цитоплазме равен –286 мВ, а в эндоплазматическом ретикулуме от –190 до –170 мВ, что соответствует соотношению GSSG/2GSH приблизительно 1/1–1/3 [31].

Кроме поддержания редокс-статуса, глутатион служит субстратом глутатионпероксидаз, участвуя тем самым в регуляции работы антиоксидантных систем клетки. Глутатионпероксидазы осуществляют реакцию восстановления перекиси водорода.

Выводы

В результате проведенного обзора литературы показано влияние технологических характеристик культивирования, а также биотехнологических свойств дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на процесс накопления глутатиона.

Критерии авторства

Т. В. Меледина, А. А. Морозов, С. Г. Давыденко, Г. В. Терновской внесли равнозначный вклад в структуру обзорного исследования, анализ литературных данных и их представление.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Contribution

The authors equally contributed to the structure of the present survey research, scientific data analysis, and information representation.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Список литературы

1. The stimulatory effects of Tryptophan and yeast on yield and nutrient status of Wheat plants (*Triticum aestivum*) grown in newly reclaimed soil / F. M. Manal, A. T. Thalooth, R. E. Y. Essa [et al.] // Middle East Journal of Agriculture Research. – 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 27–33.
2. Chang, C.-L. Antiobesity effect of brewer's yeast biomass in animal model / C.-L. Chang, T.-H. Kao // Journal of Functional Foods. – 2019. – Vol. 55. – P. 255–262. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.027>.
3. Wu, G. Amino Acids: Biochemistry and Nutrition / G. Wu. – New York : CRC Press, 2013. – P. 140–150.
4. Alanazi, A. M. Chapter two – glutathione / A. M. Alanazi, G. A. E. Mostafa, A. A. Al-Badr // Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. – 2015. – Vol. 40. – P. 43–158. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2015.02.001>.
5. Enrichment of cookies with glutathione by inactive yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*): Physicochemical and functional properties / S. Oztürk, I. Cerit, S. Mutlu [et al.] // Journal of Cereal Science. – 2017. – Vol. 78. – P. 19–24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.06.019>.

6. Penninckx, M. J. An overview on glutathione in *Saccharomyces* versus non-conventional yeasts / M. J. Penninckx // FEMS Yeast Research. – 2002. – Vol. 2, № 3. – P. 295–305. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1567-1356\(02\)00081-8](https://doi.org/10.1016/S1567-1356(02)00081-8).
7. Drying effects on the antioxidant properties of tomatoes and ginger / O. A. Gümüşay, A. A. Borazan, N. Ercal [et al.] // Food Chemistry. – 2015. – Vol. 173. – P. 156–162. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.162>.
8. Identification and characterization of genes involved in glutathione production in yeast / T. Suzuki, A. Yokoyama, T. Tsuji [et al.] // Journal of Bioscience and Bioengineering. – 2011. – Vol. 112, № 2. – P. 107–113. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.04.007>.
9. Кулаева, О. А. Анализ изменения экспрессии генов, кодирующих ключевые ферменты детоксикации кадмия в симбиотических клубеньках гороха / О. А. Кулаева, В. Е. Цыганов // Экологическая генетика. – 2014. – Т. 12, № 2. – С. 13–22.
10. Lu, S. C. Regulation of glutathione synthesis / S. C. Lu // Molecular Aspects of Medicine. – 2009. – Vol. 30, № 1–2. – P. 42–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.05.005>.
11. Никитин, А. В. Роль ферментативной активности в формировании окислительного стресса у больных бронхиальной астмой. (обзор литературы) / А. В. Никитин, М. А. Золотарева // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Т. 20, № 2. – С. 165–169.
12. Lu, S. C. Glutathione synthesis / S. C. Lu // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects. – 2013. – Vol. 1830, № 5. – P. 3143–3153. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>.
13. Li, Y. Glutathione: a review on biotechnological production / Y. Li, G. Wei, J. Chen // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2004. – Vol. 66, № 3. – P. 233–242. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1751-y>.
14. Li, W. Enzymatic synthesis of glutathione using yeast cells in two-stage reaction / W. Li, Z. Li, Q. Ye // Bioprocess and Biosystems Engineering. – 2010. – Vol. 33, № 6. – P. 675–682. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00449-009-0361-6>.
15. Annemüller, G. The yeast in the brewery. Management. Pure yeast cultures. Propagation / G. Annemüller, H.-J. Manger, P. Lietz // Berlin : VLB Berlin, 2011. – 440 p.
16. Engineering glutathione biosynthesis of *Saccharomyces cerevisiae* increases robustness to inhibitors in pretreated lignocellulosic materials / M. Ask, V. Mapelli, H. Höck [et al.] // Microbial Cell Factories. – 2013. – Vol. 12, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-87>.
17. Enhancement of the glutathione production by mutated yeast strains and its potential as food supplement and preservative / G. M. Hamad, T. H. Taha, A. M. Alshehri [et al.] // 2018. – Vol. 13, № 1. – P. 28–36. DOI: <https://doi.org/10.3923/jm.2018.28.36>.
18. Construction of self-cloning industrial brewing yeast with high-glutathione and low-diacetyl production / Z.-Y. Wang, X.-P. He, N. Liu [et al.] // International Journal of Food Science and Technology. – 2008. – Vol. 4, № 6. – P. 989–994. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01546.x>.
19. Nanofiltration concentration of extracellular glutathione produced by engineered *Saccharomyces cerevisiae* / K. Sasaki, K. Y. Hara, H. Kawaguchi [et al.] // Journal of Bioscience and Bioengineering. – 2016. – Vol. 121, № 1. – P. 96–100. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.05.013>.
20. Glutathione production from mannan-based bioresource by mannanase/mannosidase expressing *Saccharomyces cerevisiae* / A. Prima, K. Y. Hara, A. C. Djohan [et al.] // Bioresource Technology. – 2017. – Vol. 245. – P. 1400–1406. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.190>.
21. Anschau, A. A cost effective fermentative production of glutathione by *Saccharomyces cerevisiae* with cane molasses and glycerol / A. Anschau, L. O. dos Santos, R. M. Alegre // Brazilian Archives of Biology and Technology. – 2013. – Vol. 56, № 5. – P. 849–857. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000500017>.
22. Optimal fermentation conditions for enhanced glutathione production by *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 / J.-Y. Cha, J.-C. Park, B.-S. Jeon [et al.] // Journal of Microbiology. – 2004. – Vol. 42, № 1. – P. 51–55.
23. Medium optimization based on yeast's elemental composition for glutathione production in *Saccharomyces cerevisiae* / M. Schmach, E. Lorenz, U. Stahl [et al.] // Journal of Bioscience and Bioengineering. – 2017. – Vol. 123, № 5. – P. 555–561. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.12.011>.
24. Musatti, A. Post-fermentative production of glutathione by baker's yeast (*S. cerevisiae*) in compressed and dried forms / A. Musatti, M. Manzoni, M. Rollini // New Biotechnology. – 2013. – Vol. 30, № 2. – P. 219–226. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2012.05.024>.
25. Effects of magnetic fields on biomass and glutathione production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae* / L. O. Santos, R. M. Alegre, C. Garcia-Diego [et al.] // Process Biochemistry. – 2010. – Vol. 45, № 8. – P. 1362–1367. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.05.008>.
26. Шарипов, К. О. Изучение содержания глутатиона в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* при хранении / К. О. Шарипов, Н. Н. Скворцова, А. Б. Арыкбаева // Вестник КазНМУ. – 2017. – № 3. – С. 217–219.
27. Скворцова, Н. Н. Влияние длительного замораживания на содержание тиоловых веществ и протеолитическую активность хлебопекарных дрожжей / Н. Н. Скворцова, А. Г. Шлейкин, А. Б. Арыкбаева // Вестник международной академии холода. – 2018. – № 3 – С. 62–66. DOI: <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2018-17-3-62-66>.
28. Смирнов, Л. П. Роль глутатиона в функционировании систем антиоксидантной защиты и биотрансформации (обзор) / Л. П. Смирнов, И. В. Суховская // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. – 2014. – Т. 143, № 6. – С. 34–40.

29. Couto, N. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network / N. Couto, J. Wood, J. Barber // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2016. – Vol. 95. – P. 27–42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>.
30. Билан, Д. С. Генетически кодируемые флуоресцентные сенсоры окислительно-восстановительных процессов в живых системах: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.03 / Билан Дмитрий Сергеевич. – М., 2014. – 127 с.
31. Основные редокс-пары клетки / Д. С. Билан, А. Г. Шохина, С. А. Лукьянов [и др.] // *Биоорганическая химия*. – 2015. – Т. 41, № 4. – С. 385–402. DOI: <https://doi.org/10.7868/S0132342315040041>.
32. Kurylenko, O. O. Glutathione metabolism in yeasts and construction of the advanced producers of this tripeptide / O. O. Kurylenko, K. V. Dmytruk, A. Sibirny // *Non-conventional yeasts: from basic research to application* / A. Sibirny. – Cham : Springer, 2019. – P. 153–196. DOI: https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-21110-3_6.
33. Kumar, C. Utilization of glutathione as an exogenous sulfur source is independent of γ -glutamyl transpeptidase in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: evidence for an alternative glutathione degradation pathway / C. Kumar, R. Sharma, A. K. Bachhawat // *FEMS Microbiology Letters*. – 2003. – Vol. 219, № 2. – P. 187–194. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00059-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00059-4).
34. Schmachl, M. Microbial production of glutathione / M. Schmachl, E. Lorenz, M. Senz // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2017. – Vol. 33, № 6. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2277-7>.
35. Wang, Z. Effect of amino acids addition and feedback control strategies on the high-cell-density cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* for glutathione production / Z. Wang, T. Tan, J. Song // *Process Biochemistry*. – 2007. – Vol. 42, № 1. – P. 108–111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.07.008>.
36. Wen, S. Maximizing production of glutathione by amino acid modulation and high-cell-density fed-batch culture of *Saccharomyces cerevisiae* / S. Wen, T. Zhang, T. Tan // *Process Biochemistry*. – 2006. – Vol. 41, № 12. – P. 2424–2428. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.06.030>.
37. Three-pathway combination for glutathione biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* / L. Tang, W. Wang, W. Zhou [et al.] // *Microbial Cell Factories*. – 2015. – Vol. 14, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0327-0>.
38. Луцак, В. И. Окислительный стресс у дрожжей / В. И. Луцак // *Биохимия*. – 2010. – Т. 75, № 3. – С. 346–364.
39. Kerti, O. Molecular mechanisms controlling intracellular glutathione levels in baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* and a random mutagenized glutathione over-accumulating isolate / O. Kerti. – Tallinn : Tallinn University of Technology, 2012. – 108 p.

References

1. Manal FM, Thalooth AT, Essa REY, Mirvat EG. The stimulatory effects of Tryptophan and yeast on yield and nutrient status of Wheat plants (*Triticum aestivum*) grown in newly reclaimed soil. *Middle East Journal of Agriculture Research*. 2018;7(1):27–33.
2. Chang C-L, Kao T-H. Antiobesity effect of brewer's yeast biomass in animal model. *Journal of Functional Foods*. 2019;55:255–262. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.027>.
3. Wu G. *Amino Acids: Biochemistry and Nutrition*. New York: CRC Press; 2013. pp. 140–150.
4. Alanazi AM, Mostafa GAE, Al-Badr AA. Chapter two – glutathione. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. 2015;40:43–158. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2015.02.001>.
5. Oztürk S, Cerit I, Mutlu S, Demirkol O. Enrichment of cookies with glutathione by inactive yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*): Physicochemical and functional properties. *Journal of Cereal Science*. 2017;78:19–24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.06.019>.
6. Penninckx MJ. An overview on glutathione in *Saccharomyces* versus non-conventional yeasts. *FEMS Yeast Research*. 2002;2(3):295–305. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1567-1356\(02\)00081-8](https://doi.org/10.1016/S1567-1356(02)00081-8).
7. Gümüşay OA, Borazan AA, Ercal N, Demirkol O. Drying effects on the antioxidant properties of tomatoes and ginger. *Food Chemistry*. 2015;173:156–162. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.162>.
8. Suzuki T, Yokoyama A, Tsuji T, Ikeshima E, Nakashima K, Ikushima S, et al. Identification and characterization of genes involved in glutathione production in yeast. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2011;112(2):107–113. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.04.007>.
9. Kulaeva OA, Tsyganov VYe. Gene expression analysis of genes coding key enzymes of cadmium detoxification in garden pea symbiotic nodules. *Ekologicheskaya Genetika*. 2014;12(2):13–22. (In Russ.).
10. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine*. 2009;30(1–2):42–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.05.005>.
11. Nikitin AV, Zolotareva MA. The role of the enzyme activity in formation of oxidative stress in the patients with bronchial asthma (review). *Journal of New Medical Technologies*. 2013;20(2):165–169. (In Russ.).
12. Lu SC. Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*. 2013;1830(5):3143–3153. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>.
13. Li Y, Wei G, Chen J. Glutathione: a review on biotechnological production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004;66(3):233–242. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1751-y>.

14. Li W, Li Z, Ye Q. Enzymatic synthesis of glutathione using yeast cells in two-stage reaction. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2010;33(6):675–682. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00449-009-0361-6>.
15. Annemüller G, Manger H-J, Lietz P. The yeast in the brewery. Management. Pure yeast cultures. Propagation. Berlin: VLB Berlin; 2011. 440 p.
16. Ask M, Mapelli V, Höck H, Olsson L, Bettiga M. Engineering glutathione biosynthesis of *Saccharomyces cerevisiae* increases robustness to inhibitors in pretreated lignocellulosic materials. *Microbial Cell Factories*. 2013;12(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-87>.
17. Hamad GM, Taha TH, Alshehri AM, Hafez EE. Enhancement of the glutathione production by mutated yeast strains and its potential as food supplement and preservative. 2018;13(1):28–36. DOI: <https://doi.org/10.3923/jm.2018.28.36>.
18. Wang Z-Y, He X-P, Liu N, Zhang B-R. Construction of self-cloning industrial brewing yeast with high-glutathione and low-diacetyl production. *International Journal of Food Science and Technology*. 2008;4(6):989–994. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01546.x>.
19. Sasaki K, Hara KY, Kawaguchi H, Sazuka T, Ogino C, Kondo A. Nanofiltration concentration of extracellular glutathione produced by engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2016;121(1):96–100. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.05.013>.
20. Prima A, Hara KY, Djohan AC, Kashiwagi N, Kahar P, Ishii J, et al. Glutathione production from mannan-based bioresource by mannanase/mannosidase expressing *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*. 2017;245:1400–1406. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.190>.
21. Anschau A, dos Santos LO, Alegre RM. A cost effective fermentative production of glutathione by *Saccharomyces cerevisiae* with cane molasses and glycerol. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2013;56(5):849–857. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000500017>.
22. Cha J-Y, Park J-C, Jeon B-S, Lee Y-C, Cho Y-S. Optimal Fermentation Conditions for Enhanced Glutathione Production by *Saccharomyces cerevisiae* FF-8. *Journal of Microbiology*. 2004;42(1):51–55.
23. Schmach M, Lorenz E, Stahl U, Senz M. Medium optimization based on yeast's elemental composition for glutathione production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2017;123(5):555–561. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.12.011>.
24. Musatti A, Manzoni M, Rollini M. Post-fermentative production of glutathione by baker's yeast (*S. cerevisiae*) in compressed and dried forms. *New Biotechnology*. 2013;30(2):219–226. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2012.05.024>.
25. Santos LO, Alegre RM, Garcia-Diego C, Cuellar J. Effects of magnetic fields on biomass and glutathione production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*. 2010;45(8):1362–1367. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.05.008>.
26. Sharipov KO, Skvortsova NN, Arykbayeva AB. The study of the content of glutathione in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* during storage. *Vestnik KazNMU*. 2017;(3):217–219. (In Russ.).
27. Skvortsova NN, Shleikin AG, Arykbayeva AB. The effect of prolonged freezing on the content of thiol substances and proteolytic activity of yeast. *Journal of International Academy of Refrigeration*. 2018;(3):62–66. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2018-17-3-62-66>.
28. Smirnov LP, Sukhovskaya IV. Glutathione role in antioxidant protection and in functioning of biotransformation system. *Proceedings of Petrozavodsk State University*. 2014;143(6):34–40. (In Russ.).
29. Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine*. 2016;95:27–42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>.
30. Bilan DS. Geneticheski kodiruemye fluorestsentye sensorye oksilitel'no-vosstanovitel'nykh protsessov v zhivykh sistemakh [Genetically encoded fluorescence sensors of redox processes in living systems]. Cand. bio. sci. diss. Moscow: Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences; 2014. 127 p.
31. Bilan DS, Shokhina AG, Lukyanov SA, Belousov VV. Main cellular redox couples. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2015;41(4):385–402. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.7868/S0132342315040041>.
32. Kurylenko OO, Dmytruk KV, Sibirny A. Glutathione metabolism in yeasts and construction of the advanced producers of this tripeptide. In: Sibirny A, editor. *Non-conventional yeasts: from basic research to application*. Cham: Springer; 2019. pp. 153–196. DOI: https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-21110-3_6.
33. Kumar C, Sharma R, Bachhawat AK. Utilization of glutathione as an exogenous sulfur source is independent of γ -glutamyl transpeptidase in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: evidence for an alternative glutathione degradation pathway. *FEMS Microbiology Letters*. 2003;219(2):187–194. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00059-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00059-4).
34. Schmach M, Lorenz E, Senz M. Microbial production of glutathione. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017;33(6). DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2277-7>.
35. Wang Z, Tan T, Song J. Effect of amino acids addition and feedback control strategies on the high-cell-density cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* for glutathione production. *Process Biochemistry*. 2007;42(1):108–111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.07.008>.
36. Wen S, Zhang T, Tan T. Maximizing production of glutathione by amino acid modulation and high-cell-density fed-batch culture of *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*. 2006;41(12):2424–2428. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.06.030>.

37. Tang L, Wang W, Zhou W, Cheng K, Yang Y, Liu M, et al. Three-pathway combination for glutathione biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Cell Factories*. 2015;14(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0327-0>.


38. Lushchak VI. Oxidative stress in yeast. *Biochemistry*. 2010;75(3):346–364. (In Russ.).

39. Kerti O. Molecular mechanisms controlling intracellular glutathione levels in baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* and a random mutagenized glutathione over-accumulating isolate. Tallinn: Tallinn University of Technology; 2012. 108 p.

Сведения об авторах

Меледина Татьяна Викторовна

д-р техн. наук, профессор факультета пищевых биотехнологий и инженерии, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», 197101, Россия, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, тел.: +7 (981) 892-49-76, e-mail: tatiana.meledina@yandex.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-7485-2802>

Морозов Артём Александрович

аспирант факультета пищевых биотехнологий и инженерии, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», 197101, Россия, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, тел.: +7 (965) 026-59-03, e-mail: artemamor@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-5970-4606>

Давыденко Светлана Геннадьевна

канд. биол. наук, руководитель направления развития биотехнологических процессов, ООО «Пивоваренная компания «Балтика», 194292, Россия, Санкт-Петербург, 6 Верхний пер., 3, тел.: +7 (812) 323-97-62, e-mail: Davydenko@baltika.com

 <https://orcid.org/0000-0001-8005-4743>

Терновской Григорий Валерьевич


канд. техн. наук, генеральный директор, ООО «РУСХЛЕБ», 197350, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лётчика Паршина, 5, тел.: +7 (911) 297-25-35, e-mail: grigoriy.ternovskoy@ruhleb.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-8313-2030>

Information about the authors

Tatiana V. Meledina

Dr.Sci.(Eng.), Professor of the Faculty of Food Biotechnology and Engineering, ITMO University, 49, Kronverksky Ave., St. Petersburg, 197101, Russia, phone: +7 (981) 892-49-76, e-mail: tatiana.meledina@yandex.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-7485-2802>


Artyom A. Morozov

Postgraduate Student of the Faculty of Food Biotechnology and Engineering, ITMO University, 49, Kronverksky Ave., St. Petersburg, 197101, Russia, phone: +7 (965) 026-59-03, e-mail: artemamor@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-5970-4606>

Svetlana G. Davydenko

Cand.Sci.(Bio.), Biotech Development and Research Manager, LLC Baltika Breweries, 3, 6 Verkhniy Lane, St. Petersburg, 194292, Russia, phone: +7 (812) 323-97-62, e-mail: Davydenko@baltika.com

 <https://orcid.org/0000-0001-8005-4743>

Grigoriy V. Ternovskoy

Cand.Sci.(Eng.), General Manager, LLC RusHleb, 5, Lyotchika Parshina Str., St. Petersburg, 197350, Russia, phone: +7 (911) 297-25-35, e-mail: grigoriy.ternovskoy@ruhleb.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-8313-2030>