



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.04.13

(21) Номер заявки
201791318

(22) Дата подачи заявки
2015.12.22

(51) Int. Cl. **C12N 1/18** (2006.01)
C12N 15/01 (2006.01)
C12N 15/04 (2006.01)
C12C 11/00 (2006.01)
C12N 9/44 (2006.01)

(54) ДРОЖЖИ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ АЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ

(31) **РА 2014 70825; РА 2015 70351**

(32) **2014.12.23; 2015.06.08**

(33) **DK**

(43) **2017.11.30**

(86) **PCT/DK2015/050413**

(87) **WO 2016/101960 2016.06.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КАРЛСБЕРГ БРЮИРИЗ А/С (DK)

(72) Изобретатель:
**Солодовникова Наталья И., Андерсен
Джеппе Франк (DK), Гарсиа Санчес
Роза (SE), Гойкович Зоран (DK)**

(74) Представитель:
**Угрюмов В.М., Дементьев В.Н., Лыу
Т.Н., Гизатуллина Е.М., Карпенко
О.Ю., Строкова О.В., Глухарёва А.О.
(RU)**

(56) **WO-A2-2012177854**
CLAPPERTON J.F. ET AL.: "FERMENTATION
OF MINOR WORT CARBOHYDRATES BY BREWING
YEASTS", JOURNAL OF THE INSTITUTE OF
BREWING, vol. 77, no. 6, 12 November 1971 (1971-11-12),
pages 519-522, XP055208294, ISSN: 0046-9750, DOI:
10.1002/j.2050-0416.1971.tb03415.x, the whole document

XU DENG ET AL.: "Similarities and differences in
the biochemical and enzymological properties of the four
isomaltases from *Saccharomyces cerevisiae*", FEBS OPEN
BIO, vol. 4, no. 1, 15 February 2014 (2014-02-15), pages
200-212, XP055262824, ISSN: 2211-5463, DOI: 10.1016/
j.fob.2014.02.004, the whole document

M.-A. TESTE ET AL.: "Characterization of a
New Multigene Family Encoding Isomaltases in the Yeast
Saccharomyces cerevisiae, the IMA Family", JOURNAL
OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 285, no. 35, 18 June
2010 (2010-06-18), pages 26815-26824, XP055262822,
US, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M110.145946, the
whole document

NAUMOV G.I. ET AL.: "Molecular genetic
differentiation of yeast alpha-glucosidases: Maltase and
isomaltase", MICROBIOLOGY, vol. 81, no. 3, 5 June
2012 (2012-06-05), pages 276-280, XP035065949, ISSN:
1608-3237, DOI: 10.1134/S0026261712030101, the whole
document

HAN E.-K. ET AL.: "Characterization of AGT1
encoding a general alpha-glucoside transporter from
Saccharomyces", MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol. 17,
no. 6, 1 September 1995 (1995-09-01), pages 1093-1107,
XP003026803, ISSN: 0950-382X, the whole document,
page 1098, right-hand column, line 1 - page 1099, right-hand
column, line 34, table 2

WO-A1-2005121337

SANCHEZ R.G. ET AL.: "Breeding of lager yeast
with *Saccharomyces cerevisiae* improves stress resistance
and fermentation performance", YEAST, vol. 29, no. 8, 7
August 2012 (2012-08-07), pages 343-355, XP055208296,
ISSN: 0749-503X, DOI: 10.1002/yea.2914, the whole
document

STEWART G.G. ET AL.: "125 th Anniversary
Review: Developments in brewing and distilling yeast
strains", JOURNAL OF THE INSTITUTE OF BREWING,
vol. 119, no. 4, 13 November 2013 (2013-11-13),
pages 202-220, XP055208477, ISSN: 0046-9750, DOI:
10.1002/jib.104, the whole document, page 215, left-hand
column, line 1 - page 216, left-hand column, line 45

YOSHIHIRO N. ET AL.: "Genome sequence of
the lager brewing yeast, an interspecies hybrid", DNA
RESEARCH, vol. 16, no. 2, 4 March 2009 (2009-03-04),
pages 115-129, XP002548270, ISSN: 1340-2838, DOI:
10.1093/DNARES/DSP003, the whole document

COUSSEAU F.E.M. ET AL.: "Characterization of
maltotriose transporters from the *Saccharomyces eubayanus*
subgenome of the hybrid *Saccharomyces pastorianus* lager
brewing yeast strain Weihenstephan 34/70", LETTERS IN
APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 56, no. 1, 21 November
2012 (2012-11-21), pages 21-29, XP055208401, ISSN:
0266-8254, DOI: 10.1111/lam.12011, the whole document

SAERENS S.G. ET AL.: "Genetic improvement
of brewer's yeast: current state, perspectives and limits",
APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY,
vol. 86, no. 5, 2 March 2010 (2010-03-02), pages 1195-1212,
XP019799996, ISSN: 1432-0614, the whole document

ANNALURU N. ET AL.: "Total Synthesis of a
Functional Designer Eukaryotic Chromosome", SCIENCE,
vol. 344, no. 6179, 4 April 2014 (2014-04-04), pages
55-58, XP055262780, US, ISSN: 0036-8075, DOI:
10.1126/science.1249252, cited in the application, the whole
document

KARIN VOORDECKERS ET AL.: "Reconstruction
of Ancestral Metabolic Enzymes Reveals Molecular
Mechanisms Underlying Evolutionary Innovation through
Gene Duplication", PLOS BIOLOGY, vol. 10, no.
12, 11 December 2012 (2012-12-11), page e1001446,
XP055281931, DOI: 10.1371/journal.pbio.1001446, the
whole document

YASUSHI HIRAOKA ET AL.: "Inner nuclear membrane protein Imal is dispensable for intranuclear positioning of centromeres", GENES TO CELLS, vol. 16, no. 10, 1 September 2011 (2011-09-01), pages 1000-1011, XP055282048, GB, ISSN: 1356-9597, DOI: 10.1111/j.1365-2443.2011.01544.x, the whole document

MARIT H. ET AL.: "S. cerevisiae x S. eubayanus interspecific hybrid, the best of both worlds and beyond", FEMS YEAST RESEARCH, vol. 15, no. 3, 5 March 2015 (2015-03-05), page fov005, XP008177238, ISSN:

1567-1356, DOI: 10.1093/FEMSYR/F0V005, the whole document

KRISTOFFER K. ET AL.: "New lager yeast strains generated by interspecific hybridization", JOURNAL OF INDUSTRIAL MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, vol. 42, no. 5, 15 February 2015 (2015-02-15), pages 769-778, XP035480650, ISSN: 1367-5435, DOI: 10.1007/S10295-015-1597-6, the whole document

-
- (57) Изобретение относится к дрожжевым клеткам с полезными характеристиками, включающими способность использовать панозу в качестве единственного источника углерода и/или способность использовать один или несколько дипептидов в качестве единственного источника азота. Изобретение также относится к дрожжевым клеткам с полезными генотипами, в том числе содержащими по меньшей мере 4 аллельных гена, кодирующих IMA1p, и/или по меньшей мере два аллельных гена, кодирующих IMA5p.

037550 B1

037550 B1

Предшествующий уровень техники изобретения

Алкольные напитки зачастую готовят путем сбраживания дрожжами богатой углеводами жидкости. Например, пиво готовят путем сбраживания дрожжами суслу. Сусло содержит ряд соединений, которые могут быть использованы дрожжами. Например, сусло богато сахарами, в частности мальтозой, а также аминокислотами и небольшими пептидами. Обычные дрожжи могут использовать мальтозу, и, следовательно, обычные дрожжи могут сбраживать мальтозу с образованием этанола. Однако, помимо мальтозы, сусло также содержит другие углеводы, некоторые из которых не могут быть использованы обычными дрожжами и, в частности, не лагерными дрожжами.

Лагерные дрожжи обычно отличаются от элевых дрожжей несколькими особенностями. Лагерные дрожжи принадлежат к виду *S. pastorianus*. Зачастую лагерные дрожжи также называют "дрожжами низового брожения", так как они оседают на дне в процессе сбраживания. Кроме того, штаммы лагерных дрожжей лучше всего применять при температурах от 7 до 15°C. В дополнение к этому, лагерные дрожжи способны использовать мелибиозу в качестве единственного источника углерода и не могут расти при 37°C.

В отличие от этого, элевые дрожжи принадлежат к виду *S. cerevisiae*. Зачастую, элевые дрожжи также называют "дрожжами верхового брожения", поскольку они поднимаются на поверхность в процессе сбраживания. Кроме того, штаммы элевых дрожжей лучше всего применять при температурах в диапазоне от 10 до 25°C, хотя некоторые штаммы не будут активно сбраживать при температуре ниже 12°C. В дополнение к этому, элевые дрожжи не способны использовать мелибиозу в качестве единственного источника углерода и могут расти при 37°C.

В пивоварении также можно использовать и другие дрожжи, например *Saccharomyces diastaticus*. *Saccharomyces diastaticus* относится к виду *Saccharomyces cerevisiae*, штамму (var.) *diastaticus*, и имеет характерную особенность, заключающуюся в наличии активного фермента глюкоамилаза, кодируемого по меньшей мере одним из следующих генов STA1, STA2 или STA3, что позволяет дрожжам использовать крахмал в качестве единственного источника углерода. Гены STA обычно отсутствуют у *S. cerevisiae* или *S. pastorianus* или других анализируемых штаммов видов *Saccharomyces*, но присутствуют в подгруппе *S. cerevisiae* var. *diastaticus*.

Краткое раскрытие изобретения

Существует потребность в улучшенных штаммах дрожжей, которые имеют характеристики как лагерных дрожжей (например, *S. pastorianus*), так и элевых дрожжей (например, *S. cerevisiae*). Кроме того, существует потребность в штаммах дрожжей, которые могут использовать как можно большее количество различных источников энергии. В частности, существует потребность в дрожжах, которые могут использовать присутствующие в сусле сахара, которые не являются мальтозой, и в дрожжах, которые в большой степени могут использовать аминокислоты и пептиды.

Примечательно, что настоящее изобретение относится к гибридным дрожжам, которые обладают несколькими важными характеристиками лагерных дрожжей, но которые, в то же время, могут использовать множество различных присутствующих в сусле источников энергии.

Следовательно, в соответствии с одним из аспектов настоящее изобретение относится к созданию дрожжевой клетки, обладающей по меньшей мере одной из следующих характеристик:

I - способна использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода;

II - способна использовать панозу в качестве единственного источника углерода.

В дополнение к вышеупомянутым характеристикам I и II, дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь дополнительные характеристики, например одну или несколько из следующих характеристик:

III - способна использовать один или несколько дипептидов в качестве единственного источника азота;

IV - способна использовать один или несколько трипептидов в качестве единственного источника азота;

V - способна снижать уровень одной или нескольких аминокислот до не более 10% от исходной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях;

VI - способна вырабатывать по меньшей мере 4,7 промилле этанола на ° Плато при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам; и/или

VII - способна сбраживать сахар с действительной степенью сбраживания по меньшей мере 70 при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам.

Также в соответствии с одним из аспектов настоящее изобретение относится к созданию дрожжевой клетки, обладающей по меньшей мере одной из следующих характеристик:

II - способна использовать панозу в качестве единственного источника углерода;

III - способна использовать один или несколько дипептидов в качестве единственного источника

азота.

Также в соответствии с одним из аспектов настоящее изобретение относится к созданию дрожжевой клетки, обладающей следующей характеристикой:

II - способна использовать панозу в качестве единственного источника углерода.

В дополнение к вышеупомянутым характеристикам II и/или III дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь дополнительные характеристики, например одну или несколько из следующих характеристик:

I - способна использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода;

IV - способна использовать один или несколько трипептидов в качестве единственного источника азота;

V - способна снижать уровень одной или нескольких аминокислот до не более 10% от исходной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях;

VI - способна вырабатывать по меньшей мере 4,7 промилле этанола на ° Плато при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам; и/или

VII - способна сбраживать сахар с действительной степенью сбраживания по меньшей мере 70 при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам.

Также в соответствии с одним из аспектов настоящее изобретение относится к способам получения напитка, причем указанные способы предусматривают стадии:

I - получения исходной жидкости;

II - получения дрожжевой клетки по настоящему изобретению;

III - сбраживания указанной исходной жидкости при помощи указанной дрожжевой клетки.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показан рост различных штаммов дрожжей в определенной среде с 2 г/л панозы в качестве единственного источника углерода. Показанные данные отражают биологическую воспроизводимость. В секции А) показан рост элевых дрожжей 1, гибридных дрожжей 1, гибридных дрожжей 4 и лагерных дрожжей 1. В секции В) показан рост элевых дрожжей 1, гибридных дрожжей 7 и лагерных дрожжей 2. В секции С) показан рост *S. diastaticus* и гибридных дрожжей 8.

На фиг. 2 показан рост дрожжей в определенной среде с 2 г/л изомальтозы в качестве единственного источника углерода. Показанные данные отражают биологическую воспроизводимость. В секции А) показан рост элевых дрожжей 1, гибридных дрожжей 1, гибридных дрожжей 4 и лагерных дрожжей 2. В секции В) показан рост элевых дрожжей 1, гибридных дрожжей 7 и лагерных дрожжей 1. В секции С) показан рост *S. diastaticus* и гибридных дрожжей 8.

На фиг. 3 показан рост дрожжевых клеток в системе MBR Bioscreen C в определенной среде с 2 г/л мелибиозы в качестве единственного источника углерода. В секции А показан рост гибридных дрожжей 1 и гибридных дрожжей 4. В секции В показан рост гибридных дрожжей 7.

На фиг. 4 показаны результаты NMR анализа отдельных сахаров в варке конечного бутылочного пива, сравнивающие пиво, приготовленное с помощью лагерных дрожжей 1 и гибридных дрожжей 1.

На фиг. 5 показано выравнивание белка DAL5 из элевых дрожжей 1, лагерных дрожжей 1 и гибридных дрожжей 1. Последовательность DAL5 у гибридных дрожжей 1 обозначена как Sc_DAL5_Hybrid_1 (SEQ ID NO:6).

На фиг. 6 показано выравнивание белка UBR1, кодируемого Sc аллелями UBR1, иллюстрирующее наличие Sc аллеля лагерных дрожжей 1 в гибридных дрожжах 1, в то время как у элевых дрожжей 1 он является укороченным. Изображена лишь часть выравнивания; остатки с выделением черным цветом отличаются от последовательности гибридных дрожжей 1.

На фиг. 7 показано выравнивание белка UBR1, кодируемого отличными от Sc (nonSc) аллелями UBR1, иллюстрирующее наличие Sc аллеля лагерных дрожжей 1 в гибридных дрожжах 1.

На фиг. 8 показано выравнивание белка IMA1p, кодируемого короткими аллелями IMA1. IMA1p, кодируемый короткими аллелями IMA1, обнаруженными у гибридных дрожжей 1, обозначен соответственно IMA1_Sc_allele_short_A_Hybrid_1 и IMA1_Sc_allele_short_B_Hybrid_1.

На фиг. 9 показано выравнивание белка IMA1p, кодируемого длинными аллелями IMA1. На фиг. 9А показано выравнивание IMA1p, кодируемого длинными аллелями из элевых дрожжей 1, лагерных дрожжей 1 и гибридных дрожжей 1. IMA1p, кодируемый длинными аллелями IMA1, обнаруженными у гибридных дрожжей 1, обозначен соответственно LONG_IMA1_A_Hyb1_p117 и LONG_IMA1_B_Hyb1_p118. На фиг. 9В показано выравнивание IMA1p, кодируемого длинными аллелями из элевых дрожжей 1, лагерных дрожжей 2, гибридных дрожжей 4 и гибридных дрожжей 7.

На фиг. 10 показано выравнивание белка IMA5p, кодируемого IMA5-подобным аллелем. IMA5p, кодируемый IMA5-подобным аллелем, обнаруженным в гибридных дрожжах 1, обозначен соответственно ScIMA5_Hybrid1_p11 и non-ScIMA5_Hybrid1.

На фиг. 11 показано выравнивание белка AGT1, кодируемого Sc аллелями AGT1. На фиг. 11A показано выравнивание AGT1, кодируемого Sc аллелями AGT1 из лагерных дрожжей 1, элевых дрожжей 1 и гибридных дрожжей 1. AGT1, кодируемый AGT1, обнаруженным у гибридных дрожжей 1, обозначен соответственно Sc_AGT1_Hybrid1_pl37, Sc_AGT1_Hybrid1_pl38 и Sc_AGT1_Hybrid1_pl39. На фиг. 11B показано выравнивание AGT1, кодируемого Sc аллелями AGT1 из лагерных дрожжей 2, элевых дрожжей 1, гибридных дрожжей 4 и гибридных дрожжей 7.

На фиг. 12 показано выравнивание белка AGT1, кодируемого отличными от Sc аллелями AGT1. На фиг. 12A показано выравнивание AGT1, кодируемого отличными от Sc аллелями AGT1 из лагерных дрожжей 1 и гибридных дрожжей 1. AGT1, кодируемый посредством AGT1, обнаруженном у гибридных дрожжей 1, обозначен Non-Sc_AGT1_Hybrid1. На фиг. 12A показано выравнивание AGT1, кодируемого отличными от Sc аллелями AGT1 из лагерных дрожжей 1, лагерных дрожжей 2, гибридных дрожжей 1, гибридных дрожжей 4 и гибридных дрожжей 7.

На фиг. 13 показан рост дрожжей в определенной среде с 2 г/л мальтотриозы в качестве единственного источника углерода. Показанные данные отражают биологическую воспроизводимость.

На фиг. 14 показан рост дрожжей в определенной среде с 2 г/л мальтулозы в качестве единственного источника углерода. Показанные данные отражают биологическую воспроизводимость.

На фиг. 15 показан рост дрожжей в определенной среде с 2 г/л койбиозы в качестве единственного источника углерода. Показанные данные отражают биологическую воспроизводимость.

На фиг. 16 показано видимое содержание экстрактивных веществ в зависимости от времени в ходе сбраживания суслу лагерными дрожжами 2, гибридными дрожжами 4 и гибридными дрожжами 7.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Определения.

Применяемые в настоящем документе формы единственного числа могут означать один или несколько, в зависимости от контекста, в котором их применяют.

Применяемый в настоящем документе термин "АЕ" представляет собой аббревиатуру для термина "видимое содержание экстрактивных веществ". "Видимое содержание экстрактивных веществ" является мерой плотности пивного суслу, выраженной в проценте экстрактивных веществ по массе, и выражается по шкале Плато. Это конечный вес или удельный вес, измеренный в конце сбраживания пива. Вес, в контексте алкогольных напитков, относится к относительной плотности жидкости относительно воды. Чем больше сахаров растворилось в сусле, тем выше плотность суслу.

Аминокислоты в настоящем документе могут называться с использованием однобуквенных и трехбуквенных кодов IUPAC.

Применяемый в настоящем документе термин "пиво" относится к напитку, приготовленному путем сбраживания суслу. Предпочтительно указанное сбраживание осуществляют с помощью дрожжей.

Применяемый в настоящем документе термин "источник углерода" относится к любой органической молекуле, которая может обеспечить энергией дрожжи и обеспечить углеродом для клеточного биосинтеза. В частности, указанным источником углерода могут быть углеводы, и, более предпочтительно источником углерода могут быть моно- и/или дисахариды.

В настоящем документе термин "клетки в суспензии" применяют в отношении инкубации клеток в жидкой среде в емкости. "Клетки в суспензии" представляют собой клетки, которые после инкубации не осели на дно емкости, а свободно плавают в жидкой среде. Клетки в суспензии можно определить, взяв образец жидкой среды из верхней части емкости и подсчитав в нем клетки.

Термин "диацетил, который соответствует техническим нормам", относится к уровню диацетила, который не превышает предопределенный порог, который установлен на уровне, ниже порога, который считается придающим посторонний привкус в лагерном пиве. Предпочтительно диацетил считают соответствующим техническим нормам, если уровень диацетила составляет не более 30 ppb.

Под "кодирующий" или "кодируется" в контексте указанной нуклеиновой кислоты обозначает содержащий информацию для трансляции в указанный белок. Нуклеиновая кислота или полинуклеотид, кодирующий белок, может содержать нетранслируемые последовательности, например интроны, в транслируемых участках нуклеиновой кислоты или может не иметь таких промежуточных нетранслируемых последовательностей, например, в кДНК. Информация, с помощью которой кодируется белок, определяется использованием кодонов.

Применяемый в настоящем документе термин "экспрессия" в контексте нуклеиновых кислот следует понимать как транскрипцию и накопление смысловой мРНК или антисмысловой РНК, полученной с фрагмента нуклеиновой кислоты.

Применяемый в контексте белков термин "экспрессия" относится к трансляции мРНК в полипептид.

Термин "ген" означает сегмент ДНК, участвующий в продуцировании полипептидной цепи; он включает участки, предшествующие кодирующему участку и идущими после него (промотор и терминатор). Кроме того, некоторые дрожжевые гены также содержат интроны, хотя в геноме *S. cerevisiae* лишь 5% генов содержат интроны. После транскрипции в РНК, интроны удаляются путем сплайсинга с образованием зрелой матричной РНК (мРНК).

Термин "рост", применяемый в настоящем документе в отношении дрожжей, относится к процессу, при котором дрожжевые клетки размножаются. Таким образом, если дрожжевые клетки растут, количество дрожжевых клеток увеличивается. Количество дрожжевых клеток может быть определено любым пригодным способом, например путем определения OD (620 нм). Увеличение OD (620 нм) соответствует увеличению количества дрожжевых клеток. Обеспечивающие рост дрожжей условия - это условия, позволяющие дрожжевым клеткам увеличиваться в количестве. Такие условия обычно требуют наличия соответствующих питательных веществ, например источника углерода и источника азота, а также соответствующую температуру, которая обычно находится в диапазоне от 5 до 40°C.

Применяемый в настоящем документе термин "источник азота" относится к любой содержащей органический азот молекуле и/или к содержащим аммоний молекулам. В частности, указанный источник азота может быть органическим источником азота, например пептидами, аминокислотами и/или другими аминами. Источником азота также может быть аммоний. Таким образом, в настоящем документе в качестве "источника азота" не рассматривают N₂.

Термин "солод" относится к зерновым злакам, которые были осоложены. Осоложивание является особой формой проращивания злаковых зерен (например, зерен ячменя), происходящего в контролируемых условиях окружающей среды, включая без ограничения замочные танки и солодорастильные ящики на солодовне. Обычно осоложивание включает затирание указанных зерен с последующим проращиванием. Процесс осоложивания может быть прекращен путем сушки злаковых зерен (например, зерен ячменя), например, в процессе сушки в печи, который обычно осуществляют при повышенных температурах. Солод можно обработать, например, путем измельчения и тогда его называют "измельченными солодом" или "мукой".

"Затирание" обозначает инкубацию измельченного солода в воде. Затирание предпочтительно проводят при определенной температуре и в определенном объеме воды. Температура и объем воды имеют важное значение, так как они влияют на степень снижения ферментной активности, полученной из солода, и, следовательно, особенно на величину гидролиза крахмала, который может происходить; также может быть важным протеазное действие. Затирание может происходить в присутствии несоложенного сырья, которое, как понятно, содержит любой источник углеводов, отличный от солода, такой как без ограничения ячмень, патока ячменя или кукуруза или рис, либо в виде цельных зерен, либо в виде переработанных продуктов, таких как крупы, патоки или крахмал. Все вышеупомянутое несоложеное сырье большей частью может быть использовано в качестве дополнительного источника экстрактивного вещества (патоки обычно дозируют в процессе термообработки сусла). Требования к переработке несоложенного сырья в пивоварне зависят от состояния и типа используемого несоложенного сырья и, в частности, от температуры клейстеризации или ожижения крахмала. Если температура клейстеризации выше, чем для нормального осахаривания солода, то крахмал клейстеризуют и ожижают перед добавлением в затор.

Применяемый в настоящем документе термин "Плато" относится к плотности, измеряемо по шкале Плато. Шкала Плато является эмпирически полученной ареометрической шкалой для измерения плотности пива или сусла в массовых процентах экстрактивного вещества. По шкале выражают плотность в виде процента сахара по массе.

Под термином "сусло" понимают жидкий экстракт солода, такой как измельченный солод, или зеленый солод, или измельченный зеленый солод. При варке ячменя, сусло также может быть получено путем инкубации экстракта неосоложенного ячменя со смесью ферментов, которая гидролизует компоненты ячменя. Помимо указанных экстрактивных веществ из солода или ячменя, жидкое экстрактивное вещество может быть получено из солода и дополнительных компонентов (например, несоложенного сырья), таких как дополнительный крахмалосодержащий материал, частично превращенный в сбраживаемые сахара. Сусло обычно получают путем затирания, необязательно с последующим "промыванием", в процессе экстрагирования остаточных сахаров и других соединений из пивной дробины после затирания в горячей воде. Промывание обычно проводят в фильтрационном чане, майш-филт্রে или другом устройстве для осуществления отделения воды с экстрагированными веществами от пивной дробины. Сусло, полученное после затирания, обычно называют "первым суслем", а сусло, полученное после промывания, обычно называют "вторым суслем". Если не указано, термин "сусло" может означать первое сусло, второе сусло или их комбинацию. Во время традиционного производства пива сусло кипятят вместе с хмелем, однако настоящее изобретение относится к способам уменьшения кипячения или обхода кипячения сусла. Сусло без хмеля также могут называть "сладким суслем", в то время как сусло, прокипяченное/нагретое с хмелем, могут называть "прокипяченным суслем".

Применяемый в настоящем документе термин "дрожжевая клетка, способная использовать XX", относится к дрожжевой клетке, которая может усваивать и расщеплять XX.

Применяемый в настоящем документе термин "дрожжевая клетка, способная использовать XX в качестве единственного источника углерода", относится к дрожжевой клетке, которая может расти на среде, содержащей XX в качестве единственного источника углерода. Таким образом, указанная среда предпочтительно не содержит никаких других углеводов, кроме XX.

Дрожжевая клетка.

Настоящее изобретение относится к дрожжевой клетке, имеющей по меньшей мере одну из опи-

санных ниже в настоящем документе характеристик, II, III, IV, V, VI, VII и XI.

В частности, предпочтительно, чтобы указанная дрожжевая клетка, по меньшей мере, имела описанные ниже в настоящем документе характеристики I и II.

Также предпочтительно, чтобы указанная дрожжевая клетка имела, по меньшей мере, описанную ниже характеристику II. Также предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка имела по меньшей мере описанные ниже характеристики II и III.

Характеристика I может представлять собой любую из характеристик I, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика I". В частности, характеристика I может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода.

Характеристика II может представлять собой любую из характеристик II, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика II". В частности, характеристика II может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать паноузу в качестве единственного источника углерода.

Характеристика III может представлять собой любую из характеристик III, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика III". В частности, характеристика III может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать дипептиды в качестве единственного источника азота.

Характеристика IV может представлять собой любую из характеристик IV, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика IV". В частности, характеристика IV может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать трипептиды в качестве единственного источника азота.

Характеристика V может представлять собой любую из характеристик V, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика V". В частности, характеристика V может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна снижать уровень одной или нескольких аминокислот до не более 10% от начальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Характеристика VI может представлять собой любую из характеристик VI, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика VI". В частности, характеристика VI может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна вырабатывать по меньшей мере 4,7 промилле этанола на ° Plato при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию сусла с содержанием сахара по меньшей мере 10° Plato и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам.

Характеристика VII может представлять собой любую из характеристик VII, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика VII". В частности, характеристика VII может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна сбраживать сахар с реальной степенью сбраживания по меньшей мере 70 при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию сусла с содержанием сахара по меньшей мере 10° Plato и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам.

Характеристика XI может представлять собой любую из характеристик XI, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика XI". В частности, характеристика XI может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна сбраживать сусло со временем главного брожения не более 4 дней.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь одну или несколько характеристик.

Таким образом, дрожжевая клетка может иметь по меньшей мере две, предпочтительно по меньшей мере три, более предпочтительно по меньшей мере четыре, еще более предпочтительно по меньшей мере пять, как, например, по меньшей мере 6, как, например, все из характеристик I, II, III, IV, V, VI и VII. Дрожжевая клетка также может иметь по меньшей мере две, предпочтительно по меньшей мере три, более предпочтительно по меньшей мере четыре, еще более предпочтительно по меньшей мере пять, как, например, по меньшей мере 6, как, например, все из характеристик I, II, III, IV, V, VI, VII и XI.

Таким образом, дрожжевая клетка по настоящему изобретению может иметь характеристики I и II. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I и III. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики I и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики I и XI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II, и III. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики I, II и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики I, II и XI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II, III и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II, III и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II, III и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики I, II, III и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики I, II, III и XI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II, III и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II, III и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики I, II, III и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики I, II, III и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики I, II, III и XI. Дрожжевая клетка по

и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики II, VI и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики II, VI и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики II, VI, VII и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики II, VII и XI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики III и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики III и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики III и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III и XI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики III, IV и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики III, IV и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, IV и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, IV и XI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики III, IV, V и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, IV, V и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, IV, V и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, IV, V и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, IV, V и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, IV, V; VI, VII и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, V и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, V и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, V и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, VI и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, VI и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, VI, VII и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики III, VII и XI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики IV и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики IV и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики IV и VII. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики IV, V и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики IV, V и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики IV, V, VI и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики IV, VI и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики IV, VI и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики IV, VI, VII и XI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь характеристики V и VI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики V и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики V и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики V, VI и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики V, VII и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики VI и VII. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики VI и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики VI, VII и XI. Дрожжевая клетка также может иметь характеристики VII и XI.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения дрожжевая клетка имеет все характеристики I, II, III, IV, V, VI и VII. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения дрожжевая клетка имеет все характеристики I, II, III, IV, V, VI, VII и XI.

Помимо описанных выше характеристик, дрожжевые клетки по настоящему изобретению могут иметь одну или несколько дополнительных характеристик.

Таким образом, помимо одной или нескольких из характеристик I, II, III, IV, V, VI, VII и/или XI, дрожжевая клетка в таком случае также может иметь характеристику VIII. Характеристика VIII может представлять собой любую из характеристик VIII, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика VIII". В частности, характеристика VIII может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать мелибиозу в качестве единственного источника углерода.

Помимо одной или нескольких из характеристик I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII и/или XI, дрожжевая клетка в таком случае также может иметь характеристику IX. Характеристика IX может представлять собой любую из характеристик IX, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика IX". В частности, характеристика IX может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать дисахариды и/или трисахариды в качестве единственного источника углерода.

Помимо одной или нескольких из характеристик I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX и/или XI, дрожжевая клетка в таком случае также может иметь характеристику X. Характеристика X может представлять собой любую из характеристик X, описанных в настоящем документе ниже в разделе "Характеристика X". В частности, характеристика X может заключаться в том, что дрожжевая клетка имеет лишь небольшое количество клеток в суспензии.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения дрожжевая клетка может иметь все характеристики I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X и XI.

Дрожжевая клетка может быть дрожжевой клеткой любого подходящего вида. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения дрожжевая клетка представляет собой гибрид между дрожжевой клеткой вида *S. pastorianus* и дрожжевой клеткой вида *S. cerevisiae*.

Характеристика I.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику I, причем характеристика I заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать изомальтозу. Таким образом, при инкубации в среде, содержащей изомальтозу, указанная дрожжевая клетка в таком

случае способна удалять по меньшей мере часть указанной изомальтозы.

Более предпочтительно характеристика I заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода. Таким образом, дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей изомальтозу в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких моно- и/или дисахаридов, кроме изомальтозы, и более предпочтительно такая среда не содержит никаких углеводов, кроме изомальтозы.

Даже если дрожжевая клетка способна сбраживать изомальтозу, это не обязательно означает, что указанная дрожжевая клетка способна использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода. Таким образом, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка была способна как использовать изомальтозу, так и использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода.

В частности, характеристика I может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей в диапазоне от 1 до 5 г/л, например в диапазоне от 1 до 3 г/л, как, например, 2 г/л изомальтозы в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких углеводов, кроме изомальтозы в указанной концентрации.

Один пригодный способ определения того, способна ли дрожжевая клетка использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода, описан в настоящем документе ниже в примере 5.

Дрожжевые клетки, имеющие характеристику I, предпочтительно также имеют один или несколько из генотипов IV, V и VI, более предпочтительно все из описанных ниже генотипов IV, V и VI.

Характеристика II.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику II, причем характеристика II заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать панозу. Таким образом, при инкубации в среде, содержащей панозу, указанная дрожжевая клетка в таком случае способна удалять по меньшей мере часть указанной панозы. Предпочтительно указанная дрожжевая клетка способна удалять (например, способна сбраживать) по меньшей мере 45%, как, например, по меньшей мере 50%, например по меньшей мере 60% панозы в указанной среде. Указанная среда может, в частности, представлять собой сусло. Предпочтительно указанная дрожжевая клетка способна удалять вышеупомянутое количество панозы при инкубировании в указанном сусле до тех пор, пока диацетил соответствует техническим нормам, например в течение 4-6 дней, например в течение 5 дней. Инкубация может происходить, например, при температуре от 16 до 18°C. Таким образом, указанная дрожжевая клетка может быть способна удалять по меньшей мере 45%, как, например, по меньшей мере 50%, например по меньшей мере 60% панозы, присутствующей в сусле, при определении с помощью сбраживания сусла, которое описано в настоящем документе ниже в примере 5.

Более предпочтительно характеристика II заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать панозу в качестве единственного источника углерода. Таким образом, дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей панозу в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких моно-, ди- и/или трисахаридов, кроме панозы, и более предпочтительно такая среда не содержит никаких углеводов, кроме панозы.

Даже если дрожжевая клетка способна сбраживать панозу, это не обязательно означает, что указанная дрожжевая клетка способна использовать панозу в качестве единственного источника углерода. В соответствии с одним вариантом осуществления дрожжевая клетка способна как использовать панозу, так и использовать панозу в качестве единственного источника углерода.

В частности, характеристика II может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей в диапазоне от 1 до 5 г/л, например в диапазоне от 1 до 3 г/л, как, например, 2 г/л панозы в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких углеводов, кроме панозы в указанной концентрации.

Один пригодный способ определения того, способна ли дрожжевая клетка использовать панозу в качестве единственного источника углерода, описан в настоящем документе ниже в примере 5.

Дрожжевые клетки, имеющие характеристику II, предпочтительно также имеют один или несколько из генотипов IV, V и VI, более предпочтительно все из описанных ниже генотипов IV, V и VI.

Характеристика III.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику III, причем характеристика III заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать дипептиды. Таким образом, при инкубации в среде, содержащей дипептиды, указанная дрожжевая клетка в таком случае способна удалять по меньшей мере часть указанных дипептидов.

Более предпочтительно характеристика III заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать дипептиды в качестве единственного источника азота. Таким образом, дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей дипептиды в качестве единственного источника азота. Такая среда предпочтительно не содержит никаких аминокислот и пептидов, кроме дипептидов, и более предпочтительно такая среда не содержит никаких аминокислот, пептидов и аммония, кроме дипептидов.

Характеристика III может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать любой дипептид в качестве единственного источника азота. Однако также возможно, чтобы указанные дрожжи были способны использовать лишь один или несколько конкретных дипептидов в качестве единственно-

го источника азота.

Предпочтительно, чтобы характеристика III заключалась в том, что дрожжевая клетка способна использовать по меньшей мере один, как, например, по меньшей мере два, например по меньшей мере три, как, например, по меньшей мере 4, например по меньшей мере 5, как, например, все из следующих дипептидов:

Met-Tyr;
Leu-Tyr;
Val-Met;
Phe-Tyr;
Ile-Leu;
Ile-Asn.

В соответствии с одним вариантом осуществления характеристика III заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать по меньшей мере один, как, например, по меньшей мере 3, например, по меньшей мере 5, как, например, по меньшей мере 7, например, по меньшей мере 9, как, например, все из следующих дипептидов:

Gly-Arg;
Ile-Asn;
Lys-Tyr;
Met-Lys;
Val-Ala;
Val-Asn;
Val-Gly;
Val-Gln;
Val-Met;
Val-Ser.

Характеристика III также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать один или несколько дипептидов с формулой Val-Хаа, где Хаа обозначает любую аминокислоту. Например, характеристика III может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать по меньшей мере 3, как, например, по меньшей мере 4, например, по меньшей мере 6 различных дипептидов с формулой Val-Хаа. В частности, Хаа может представлять собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из Ala, Asn, Gly, Gln, Met и Ser.

Характеристика III также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать один или несколько дипептидов с формулой Ala-Хаа, где Хаа обозначает любую аминокислоту. В частности, Хаа может представлять собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из Glu, Gly, His и Thr. Зачастую, способность использовать дипептид с формулой Ala-Хаа связана со способностью использовать аллантаата, который является промежуточным продуктом катаболизма аллантиина. Таким образом, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка, помимо всего прочего, была способна использовать аллантиин в качестве единственного источника азота.

Характеристика III также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать один или несколько из следующих дипептидов, например, по меньшей мере 3 из следующих дипептидов, как, например, по меньшей мере 5 из следующих дипептидов, как, например, все из следующих дипептидов:

Met-Tyr;
Leu-Tyr;
Val-Met
Phe-Tyr;
Ile-Leu;
Ile-Asn;

Ala-Хаа, где Хаа представляет собой любую аминокислоту, а предпочтительно Хаа представляет собой Glu, Gly, His или Thr.

Один пригодный способ определения того, способна ли дрожжевая клетка использовать дипептиды в качестве единственного источника азота, описан в настоящем документе ниже в примере 6. Специалист в настоящей области поймет, что описанные в примере 6 способы можно применять для тестирования того, можно ли использовать любой дипептид в качестве единственного источника азота, путем замены тестируемых дипептидов.

Дрожжевые клетки, имеющие характеристику III, предпочтительно также имеют один или несколько из генотипов I, II и III, более предпочтительно все из описанных ниже генотипов I, II и III.

Характеристика IV.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику IV, причем характеристика IV заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать трипептиды. Таким образом, при инкубации в среде, содержащей трипептиды, указанная дрожжевая клетка в таком случае способна удалять по меньшей мере часть указанных трипептидов.

Более предпочтительно характеристика IV заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать трипептиды, в качестве единственного источника азота. Таким образом, дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей трипептиды в качестве единственного источника азота. Такая среда предпочтительно не содержит никаких аминокислот и пептидов, кроме трипептидов, и более предпочтительно такая среда не содержит никаких аминокислот, пептидов и аммония, кроме трипептидов.

Характеристика IV может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать любой трипептид в качестве единственного источника азота. Однако, также возможно, чтобы указанные дрожжи были способны использовать лишь один или несколько конкретных трипептидов в качестве единственного источника азота.

Предпочтительно, чтобы характеристика IV заключалась в том, что дрожжевая клетка способна использовать трипептид Gly-Gly-Gly в качестве единственного источника азота.

Один пригодный способ определения того, способна ли дрожжевая клетка использовать трипептиды в качестве единственного источника азота, описан в настоящем документе ниже в примере 6. Специалист в настоящей области поймет, что описанные в примере 6 способы можно применять для тестирования того, можно ли использовать любой трипептид в качестве единственного источника азота, путем замены тестируемых трипептидов.

Дрожжевые клетки, имеющие характеристику IV, предпочтительно также имеют один или несколько из генотипов I, II и III, более предпочтительно, по меньшей мере, описанные ниже генотипы II и III.

Характеристика V.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику V, причем характеристика V заключается в высокой степени использования аминокислот.

В целом, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка по настоящему изобретению была способна в высокой степени использовать аминокислоты. Это обеспечивает возможность использования хранящейся в аминокислотах энергии, а также обеспечивает низкий уровень аминокислот после сбраживания. Таким образом, если указанные дрожжи применяют для приготовления пива, то готовое пиво будет иметь низкий уровень аминокислот. Альдегиды, полученные в результате расщепления по Штреккеру, являются важными составляющими вкуса "выдержанного" пива, которые частично образуются из аминокислот собственно разлитого в бутылки пива. В число аминокислот, для которых было показано, что они участвуют в образовании альдегидов в реакции Штреккера с низким порогом чувствительности, входят валин, изолейцин, лейцин, метионин и фенилаланин (табл. 2). Образование альдегидов в реакции Штреккера играет решающую роль, поскольку увеличение их концентрации приводит к увеличению сенсорного восприятия "вкусовых оттенков выдержанного продукта".

Соответственно преимущество дрожжей в соответствии с настоящим изобретением заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать аминокислоты в более высокой степени, чем обычные лагерные дрожжи и элевые дрожжи.

Таким образом, предпочтительно, чтобы дрожжевые клетки по настоящему изобретению имели характеристику V, причем характеристика V заключается в том, что указанный дрожжевые клетки способны уменьшать уровень одной или нескольких аминокислот до не более 10% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. В частности, характеристика V может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень по меньшей мере 12, как, например, по меньшей мере 13, например по меньшей мере 14 различных аминокислот до менее 10% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Например, дрожжевая клетка может быть способна снижать в диапазоне от 12 до 20, например в диапазоне от 14 до 20 аминокислот, до не более 10% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Характеристика V может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна снижать уровень одной или нескольких аминокислот до менее 30%, как, например, менее чем 25% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна снижать уровень одной или нескольких аминокислот до не более 5% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. В частности, характеристика V может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень по меньшей мере 10, как, например, по меньшей мере 11, например по меньшей мере 13 различных аминокислот до менее 5% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна снижать уровень одной или нескольких аминокислот до не более 1% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. В частности, характеристика V может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень по меньшей мере 5, как, например, по меньшей мере 6, например по меньшей мере 7 различных аминокислот до ме-

нее 1% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень одной или нескольких аминокислот, из которых образуются альдегиды в реакции Штреккера. Таким образом, характеристика V может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень Met до менее 10%, предпочтительно до менее 5%, еще более предпочтительно до не более 2%, еще более предпочтительно до менее 1% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. В частности, дрожжевая клетка может быть способна удалять фактически весь Met после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень Val до менее 10%, предпочтительно до менее 5%, еще более предпочтительно до не более 2% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень Ile до менее 10%, предпочтительно до менее 5%, еще более предпочтительно до не более 2%, еще более предпочтительно до не более 1% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. В частности, дрожжевая клетка может быть способна удалять фактически весь Ile после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень Leu до менее 10%, предпочтительно до менее 5%, еще более предпочтительно до не более 2% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень Phe до менее 10%, предпочтительно до менее 5%, еще более предпочтительно до не более 2%, еще более предпочтительно до менее 1% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. В частности, дрожжевая клетка может быть способна удалять фактически весь Phe после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Термин "удалять фактически весь" применяют в настоящем документе для обозначения того, что аминокислота удалена до уровня, который ниже уровня обнаружения, если обнаружение производят с помощью UPLC.

Также настоящее изобретение относится к тому, что характеристика V заключается в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень по меньшей мере 2, предпочтительно по меньшей мере 3, более предпочтительно по меньшей мере 4, еще более предпочтительно всех из аминокислот Met, Val, Ile, Leu и Phe до менее 10%, предпочтительно до менее 5%, еще более предпочтительно до не более 2% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевые клетки способны использовать по меньшей мере 80% по меньшей мере одной из аминокислот Met, Val, Ile, Leu и Phe при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Plato и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам.

Также предпочтительно, чтобы дрожжевые клетки по настоящему изобретению имели характеристику V, причем указанная характеристика V заключается в том, что дрожжевые клетки способны уменьшать общий уровень аминокислот Met, Val, Ile, Leu и/или Phe до не более 400 мг/л, как, например, не более 100 мг/л, как, например, не более 50 мг/л, например до не более 10 мг/л после инкубации в течение 6 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Характеристика V также может представлять собой комбинацию из любых вышеупомянутых характеристик V, которые описанных в настоящем разделе. Таким образом, например, характеристика V может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень по меньшей мере 12, как, например, по меньшей мере 13, например по меньшей мере 14 различных аминокислот до менее 10% и способна уменьшать общий уровень аминокислот до менее 30%, как, например, до менее 25% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень по меньшей мере 10 различных аминокислот до менее 5% и способна уменьшать общий уровень аминокислот до менее 30%, как, например, до менее 25% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Характеристика V также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна уменьшать уровень по меньшей мере 5 различных аминокислот до менее 1% и способна уменьшать общий уровень аминокислот до менее 30%, как, например, до менее 25% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Обеспечивающие рост указанных дрожжевых клеток условия описаны ниже в настоящем документе в разделе "Способ получения напитка". Указанные условия могут представлять собой любые из описанных в данном разделе условий сбраживания. Например, указанные условия могут представлять собой

инкубацию при температуре в диапазоне 10-20°C в сусле. Уровень аминокислот можно определить любым пригодным способом, например, с помощью HPLC или UPLC. Пригодные способы определения, характеризуется ли дрожжевая клетка высоким уровнем использования аминокислот, описаны в настоящем документе ниже в примерах 4 и 9.

Характеристика VI.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику VI, причем характеристика VI заключается в высокой выработке спирта. Поскольку количество спирта, вырабатываемого данной дрожжевой клеткой, сильно зависит от исходного материала, предпочтительно, чтобы характеристика I заключалась в том, что дрожжевая клетка способна вырабатывать по меньшей мере 4,7 промилле этанола на ° Плато. ° Плато является мерой плотности жидкости и, таким образом, свидетельствует об уровне сахаров и других сбраживаемых питательных веществ.

В частности, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка была способна вырабатывать по меньшей мере 4,7 промилле этанола на ° Плато при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию сусле с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам.

Предпочтительно диацетил считают соответствующим техническим нормам, если уровень диацетила составляет не более 30 ppb.

Характеристика VII.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику VII, причем характеристика VII представляет собой высокую реальную степень сбраживания (RDF).

С помощью RDF измеряют степень, до которой сахар в исходной жидкости был сброжен в спирт. Таким образом, если исходная жидкость представляет собой сусле, с помощью RDF измеряют степень, до которой сахар в сусле был сброжен в спирт в полученном в результате пиве.

Предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением имела характеристику VII, причем характеристика VII заключается в том, что дрожжевая клетка способна сбраживать сахар с RDF по меньшей мере 68%, как, например, по меньшей мере 69%, например по меньшей мере 70% и более предпочтительно с RDF по меньшей мере 71%.

В частности, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка была способна сбраживать сахар с RDF, которая превышает RDF по меньшей мере одного из родительских штаммов. Таким образом, дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может представлять собой гибридную дрожжевую клетку, которая способна сбраживать сахар с RDF, который по меньшей мере на 1% превышает, например, по меньшей мере на 2% превышает RDF одного из родительских штаммов. В частности, дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может быть гибридом родительского штамма *S. pastorianus* и родительского штамма *S. cerevisiae*. В соответствии с такими вариантами осуществления дрожжевая клетка может быть способна сбраживать сахар с RDF, который по меньшей мере на 1 превышает RDF родительского штамма *S. pastorianus*. Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением также может быть гибридом родительского штамма *S. diastaticus* и родительского штамма *S. cerevisiae*. В соответствии с такими вариантами осуществления дрожжевая клетка может быть способна сбраживать сахар с RDF, который по меньшей мере на 1% превышает, предпочтительно по меньшей мере на 2% превышает RDF родительского штамма *S. diastaticus*.

Характеристика VIII.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику VIII, причем характеристика VIII заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать мелибиозу. Таким образом, при инкубации в среде, содержащей мелибиозу, указанная дрожжевая клетка в таком случае способна удалять по меньшей мере часть указанной мелибиозы.

Более предпочтительно характеристика VIII заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать мелибиозу в качестве единственного источника углерода. Таким образом, дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей мелибиозу в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких моно- и/или дисахаридов, кроме мелибиозы, и более предпочтительно такая среда не содержит никаких углеводов, кроме мелибиозы.

Один пригодный способ определения того, способна ли дрожжевая клетка использовать мелибиозу в качестве единственного источника углерода, описан в настоящем документе ниже в примере 7.

Характеристика IX.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику IX, причем характеристика IX заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать дисахариды и/или трисахариды. Таким образом, при инкубации в среде, содержащей дисахариды и/или трисахариды, указанная дрожжевая клетка в таком случае способна удалять по меньшей мере часть указанных дисахаридов и/или трисахаридов.

Более предпочтительно характеристика IX заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать дисахариды и/или трисахариды в качестве единственного источника углерода. Таким образом, дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей дисахариды и/или трисахариды в качестве

единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких сахаридов, кроме дисахаридов и/или трисахаридов.

Характеристика IX может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать любой дисахарид и трисахарид в качестве единственного источника углерода. Однако, также возможно, что указанные дрожжи способны использовать только один или несколько конкретных дисахаридов и/или трисахаридов в качестве единственного источника углерода. Как описано выше, предпочтительно, чтобы дрожжевые клетки были способны использовать изомальтозу (характеристика I), панозу (характеристика II) и/или мелибиозу (характеристика VIII).

Таким образом, характеристика IX предпочтительно заключается в том, что дрожжевая клетка способна использовать один или несколько дисахаридов и/или трисахаридов, которые не представляют собой изомальтозу, панозу или мелибиозу. Таким образом, характеристика IX может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна использовать один или несколько дисахаридов и/или трисахаридов в дополнение к изомальтозе, панозе или мелибиозе. Таким образом, дрожжевая клетка может быть способна использовать один или несколько дисахаридов и/или трисахаридов, которые не представляют собой изомальтозу, панозу или мелибиозу, в качестве единственного источника углерода, и, кроме того, указанная дрожжевая клетка может иметь одну или несколько из характеристик I, II или VIII.

Предпочтительно, чтобы характеристика IX заключалась в том, что дрожжевая клетка способна использовать по меньшей мере один, как, например, по меньшей мере два, например по меньшей мере три, например по меньшей мере 4, например по меньшей мере 5, как, например, все из дисахаридов, выбранных из группы, состоящей из койбиозы, нигерозы, сахарозы, туранозы, лейкозы и палатинозы, в качестве единственного источника углерода.

Также предпочтительно, чтобы характеристика IX заключалась в том, что дрожжевая клетка способна использовать мальтотриозу и/или изомальтотриозу в качестве единственного источника углерода.

Таким образом, дрожжевые клетки могут быть способны использовать мальтотриозу в качестве единственного источника углерода. Таким образом, дрожжевая клетка может быть способна расти в среде, содержащей мальтотриозу в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких моно- и/или дисахаридов и/или трисахаридов, кроме мальтотриозы, и более предпочтительно такая среда не содержит никаких углеводов, кроме мальтотриозы.

В частности, характеристика IX может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей в диапазоне от 1 до 5 г/л, например в диапазоне от 1 до 3 г/л, как, например 2 г/л мальтотриозы, в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких углеводов, кроме мальтотриозы в указанной концентрации.

Многие дрожжевые клетки, например многие клетки лагерных дрожжей, не способны использовать мальтотриозу в качестве единственного источника углерода, в частности многие клетки лагерных дрожжей не способны использовать мальтотриозу в качестве единственного источника углерода, если мальтотриоза присутствует лишь в низких уровнях.

Дрожжевые клетки могут быть способны использовать мальтулозу в качестве единственного источника углерода. Таким образом, дрожжевая клетка может быть способна расти в среде, содержащей мальтулозу в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких моно- и/или дисахаридов, кроме мальтулозы, и более предпочтительно такая среда не содержит никаких углеводов, кроме мальтулозы.

В частности, характеристика IX может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей в диапазоне от 1 до 5 г/л, например в диапазоне от 1 до 3 г/л, как, например, 2 г/л мальтулозы в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких углеводов, кроме мальтулозы в указанной концентрации.

Многие дрожжевые клетки, например многие клетки лагерных дрожжей, не способны использовать мальтулозу в качестве единственного источника углерода.

Дрожжевые клетки могут быть способны использовать койбиозу в качестве единственного источника углерода. Таким образом, дрожжевая клетка может быть способна расти в среде, содержащей койбиозу в качестве единственного источника углерода. Такая среда предпочтительно не содержит никаких моно- и/или дисахаридов, кроме койбиозы, и более предпочтительно такая среда не содержит никаких углеводов, кроме койбиозы.

В частности, характеристика IX может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна расти в среде, содержащей в диапазоне от 1 до 5 г/л, например в диапазоне от 1 до 3 г/л, как, например, 2 г/л койбиозы в качестве единственного источника углерода.

Такая среда предпочтительно не содержит никаких углеводов, кроме койбиозы в указанной концентрации.

Многие дрожжевые клетки, например многие клетки лагерных дрожжей, не способны использовать койбиозу в качестве единственного источника углерода.

Таким образом, дрожжевые клетки в соответствии с настоящим изобретением могут быть способны использовать один или несколько дисахаридов и/или трисахаридов, которые описаны в табл. 13.

Таблица 13

Субстрат	Связь
Дисахариды (Glc → Glu)	
Койбиоза	O-α-D-глюкозил-(1→2)-α-D-глюкоза
Нигероза	O-α-D-глюкозил-(1→3)-α-D-глюкоза
Изомальтоза	O-α-D-глюкозил-(1→6)-α-D-глюкоза
Дисахариды (Glc → Fru)	
Сахароза	O-α-D-глюкозил-(1→2)-β-D-фруктоза
Тураноза	O-α-D-глюкозил-(1→3)-D-фруктоза
Мальтулоза	O-α-D-глюкозил-(1→4)-D-фруктоза
Лейкроза	O-α-D-глюкозил-(1→5)-D-фруктоза
Палатиноза	O-α-D-глюкозил-(1→6)-D-фруктоза
Трисахариды	
Мальтотриоза	O-α-D-глюкозил-(1→4)-α-D-глюкозил-(1→4)-D-глюкоза
Изомальтотриоза	O-α-D-глюкозил-(1→6)-α-D-глюкозил-(1→6)-D-глюкоза
Паноза	O-α-D-глюкозил-(1→6)-α-D-глюкозил-(1→4)-D-глюкоза

Пригодные способы определения того, способна ли дрожжевая клетка использовать дисахариды и/или трисахариды, описаны в настоящем документе ниже в примерах 8 и 11. Пригодный способ определения того, способна ли дрожжевая клетка использовать дисахариды и/или трисахариды в качестве единственного источника углерода, описан в настоящем документе ниже в примере 5. Специалист в настоящей области поймет, что способы, описанные в примере 5, можно применять для тестирования того, можно ли использовать любой дисахарид и/или трисахарид в качестве единственного источника углерода, путем замены панозы/изомальтозы на подлежащий тестированию дисахарид и/или трисахарид.

Дрожжевые клетки, имеющие характеристику IX, предпочтительно также имеют один или несколько из генотипов IV, V и VI, более предпочтительно все из описанных ниже генотипов IV, V и VI.

Характеристика X.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику X, причем характеристика X заключается в том, что дрожжевая клетка имеет лишь небольшое количество клеток в суспензии, в частности дрожжевая клетка имеет малое количество клеток в суспензии после инкубации в жидкой среде в емкости. Указанная инкубация предпочтительно представляет собой инкубацию в течение от 1 до 14 дней, как, например, от 2 до 10 дней, например от 4 до 8 дней, например от 4 до 6 дней.

В частности, предпочтительно, чтобы характеристика X заключалась в том, что не более 12 млн, как, например, не более 10 млн клеток/мл находятся в суспензии после инкубации в течение 4 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Таким образом, характеристика X может заключаться в том, что не более 12 млн, например не более 10 млн клеток/мл находятся в суспензии при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании в течение 4 дней. Характеристика X также может заключаться в том, что не более 12 млн, как, например, не более 10 млн клеток/мл находятся в суспензии при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании в течение 5 дней. Характеристика X также может заключаться в том, что не более 12 млн, как, например, не более 10 млн клеток/мл находятся в суспензии при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании в течение 6 дней. Указанная инкубация может происходить, например, при температуре в диапазоне 10-20°C, например в диапазоне 10-18°C, например при 16 или 18°C. Исходная концентрация дрожжевых клеток может быть, например, в диапазоне от 10 до 20 млн клеток/мл, например в диапазоне от 14 до 15 млн клеток/мл.

Также может быть предпочтительным, чтобы характеристика X могла заключаться в том, что дрожжевая клетка имеет количество клеток в суспензии на 1 мл, которое составляет не более 80%, как, например, не более 70%, например не более 60%, как, например, не более 50%, например не более 40% от исходного количества клеток на 1 мл через 4-6 дней, как, например, в течение 5 дней инкубации в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

Например, характеристика X может заключаться в том, что дрожжевая клетка имеет количество

клеток в суспензии на 1 мл, которое составляет не более 80%, как, например, не более 70%, например не более 60%, как, например, не более 50%, например не более 40% от исходного количества клеток на 1 мл через 4-6 дней, как, например, в течение 5 дней инкубации композиции суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато. Характеристика X может заключаться в том, что дрожжевая клетка имеет количество клеток в суспензии на 1 мл, которое составляет не более 80%, как, например, не более 70%, например не более 60%, как, например, не более 50%, например не более 40% от исходного количества клеток на 1 мл через 6 дней инкубации композиции суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато. Указанная инкубация может происходить, например, при температуре в диапазоне 15-20°C, как, например, в диапазоне 10-18°C, например при 16 или 18°C.

В соответствии с одним вариантом осуществления характеристика X заключается в том, что не более 25 млн, как, например, не более 20 млн клеток/мл находятся в суспензии после инкубации в течение 7 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях. Таким образом, характеристика X может заключаться в том, что не более 25 млн, как, например, не более 20 млн клеток/мл находятся в суспензии при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании в течение 7 дней при 18°C.

Один пригодный способ определения клеток в суспензии описан ниже в примере 2.

Характеристика XI.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь характеристику XI, причем характеристика XI заключается в том, что дрожжевая клетка способна сбраживать сусло со временем главного брожения не более 4 дней.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения характеристика XI заключается в том, что дрожжевая клетка способна сбраживать сусло со временем главного брожения не более 3,5 дня.

В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения характеристика XI заключается в том, что дрожжевая клетка способна сбраживать сусло со временем главного брожения не более 3 дней.

Характеристика XI также может заключаться в том, что дрожжевая клетка способна сбраживать сусло со временем главного брожения, которое по меньшей мере на один день короче времени главного брожения, осуществляемого по меньшей мере одним из родительских штаммов в аналогичных условиях. Таким образом, дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может представлять собой гибридную дрожжевую клетку, которая способна сбраживать сусло со временем главного брожения, которое по меньшей мере на один день короче времени главного брожения, осуществляемого по меньшей мере одним из родительских штаммов в аналогичных условиях. В частности, дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может быть гибридом родительского штамма *S. pastorianus* и родительского штамма *S. cerevisiae*. В соответствии с такими вариантами осуществления дрожжевая клетка может быть способна сбраживать сусло со временем главного брожения, которое по меньшей мере на один день короче времени главного брожения, осуществляемого родительским штаммом *S. pastorianus* в аналогичных условиях.

Указанное сусло может представлять собой любое стандартное сусло, но предпочтительно представляет собой сусло с содержанием сахара не менее 10° Плато. Таким образом, указанное сусло может представлять собой, в частности, сусло с содержанием сахара в диапазоне от 10° Плато до 20° Плато. В частности, указанное сусло может представлять собой сусло с содержанием сахара от 14 до 16° Плато.

Термин "время главного брожения" обозначает время от засева суслу дрожжами до завершения главного брожения. Главное брожение считают завершенным, когда видимое содержание экстрактивных веществ является стабильным и/или когда больше не происходит активное выделение CO₂. Видимое содержание экстрактивных веществ считают стабильным, когда видимое содержание экстрактивных веществ между двумя измерениями не изменяется более чем на +/- 15%, предпочтительно не более чем на +/- 10%.

Дрожжи можно засевать на любом подходящем уровне, например от 10 до 20 млн жизнеспособных клеток/мл, например от 13 до 16 млн жизнеспособных клеток/мл, например 14-15 млн жизнеспособных клеток/мл.

Время главного брожения можно определять при температуре, при которой дрожжевая клетка способна расти. Таким образом, время главного брожения можно определять при температуре в диапазоне 10-25°C, предпочтительно при температуре в диапазоне 12-20°C, например в диапазоне 14-18°C.

Один из способов определения времени главного брожения описан ниже в примере 3.

Генетическое окружение.

Дрожжевые клетки в соответствии с настоящим изобретением могут иметь одну или несколько описанных выше в настоящем документе характеристик I-XI.

В дополнение к указанным характеристикам, дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь один или несколько из описанных в настоящем документе ниже генотипов I-VI. Указанные генотипы могут быть связаны с описанными выше характеристиками.

В соответствии с одним вариантом осуществления дрожжевая клетка по настоящему изобретению, по меньшей мере, имеет описанный ниже в настоящем документе генотип IV. Помимо наличия генотипа IV, указанные дрожжи также могут иметь один или несколько из генотипов I, II, III, V, VI и одну или несколько из характеристик I-XI.

Таким образом, в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения, дрожжевая клетка имеет, по меньшей мере, описанный ниже генотип IV и описанный ниже генотип V. Помимо наличия генотипов IV и V, указанные дрожжи также могут иметь один или несколько из генотипов I, II, III, VI и одну или несколько из характеристик I-XI.

Таким образом, дрожжевая клетка по настоящему изобретению может иметь генотипы I и II. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I и III. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II и III. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II, III и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II, III и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II, III и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II, III, IV и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II, III, IV и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы I, II, III, IV, V и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II и III. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II, III и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II, III и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II, III и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II, III, IV и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II, III, IV и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы II, III, IV, V и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы III и IV. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы III и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы III и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы III, IV и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы III, IV и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы III, IV, V и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы IV и V. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы IV и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы IV, V и VI. Дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может иметь генотипы V и VI.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения дрожжевые клетки имеют все из генотипов I, II, III, IV, V и VI.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения дрожжевая клетка по настоящему изобретению может представлять собой дрожжевую клетку, содержащую геномную последовательность ДНК, доступную в DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQJ00000000, в частности последовательность ДНК, доступную в DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQJ00000000, версии № LOQJ01000000. Эта последовательность представлена в виде результатов проекта Whole Genome Shotgun (секвенирование всего генома методом дробовика), и более подробная информация по этой последовательности приведена в настоящем документе ниже в разделе "Примеры".

В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения дрожжевая клетка по настоящему изобретению может представлять собой дрожжевую клетку, содержащую геномную последовательность ДНК, доступную в DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQJ00000000, в частности последовательность ДНК, доступную в DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQJ00000000, версии № LOQJ01000000. Эта последовательность представлена в виде результатов проекта Whole Genome Shotgun, и более подробная информация по этой последовательности приведена в настоящем документе ниже в разделе "Примеры".

На основе представленных в настоящем документе геномных последовательностей могут быть получены синтетические хромосомы дрожжей. Это можно осуществить, например, как описано в работе Callaway в журнале Nature в 2014 г. (Nature DOI: doi:10.1038/nature.2014.14941) или в работе Annaluru et al., Science 4 April 2014: Vol. 344 no. 6179, p. 55-58 (DOI: 10.1126/science.1249252). Также на "Synthetic Yeast 2.0" представлена информация о том, как получить синтетические хромосомы дрожжей (см., например, <http://svntheticveast.org>). Дрожжевые клетки, содержащие указанные синтетические хромосомы дрожжей, могут быть получены с использованием традиционной рекомбинантной технологии.

Генотип I.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь генотип I, причем генотип I характеризуется наличием гена, кодирующего DAL5. В частности, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением содержала ген, кодирующий DAL5 с SEQ ID NO:6 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним. Предпочтительно генотип I характеризуется наличием гена, кодирующего DAL5 с SEQ ID NO:6.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения, генотип I характеризуется наличием по меньшей мере одного аллельного гена, кодирующего DAL5, причем аллельный ген, кодирующий DAL5, кодирует DAL5, выбранный из группы, состоящей из DAL5 с SEQ ID NO:6, DAL5 с SEQ ID NO:39, DAL5 с SEQ ID NO:40 и их функциональных гомологов по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательностей с любым из вышеупомянутых.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип I может характеризоваться наличием следующих 2 аллельных генов:

1) гена, кодирующего DAL5 с SEQ ID NO:39 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) гена, кодирующего DAL5 с SEQ ID NO:40 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

DAL5 представляет собой транспортер дипептидов, который транспортирует дипептиды не по N-концевому правилу. Дрожжевая клетка может, например, иметь генотип I в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, где дрожжевая клетка имеет характеристики III, IV и/или VI, в частности когда дрожжевая клетка имеет характеристику III.

Генотип II.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь генотип II, причем генотип II характеризуется наличием по меньшей мере 3 генов, кодирующих PTR2. В частности, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением содержала по меньшей мере 3 гена, кодирующих PTR2, причем PTR2 может быть выбран из группы, состоящей из PTR2 с SEQ ID NO:7, PTR2 с SEQ ID NO:8, PTR2 с SEQ ID NO:9 и функциональных гомологов каждого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

Таким образом, генотип II может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит 3 гена, выбранных из группы, состоящей из:

1) гена, кодирующего PRT2 с SEQ ID NO:7 или функциональные гомологи каждого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности;

2) гена, кодирующего PRT2 с SEQ ID NO:8 или функциональные гомологи каждого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности; и

3) гена, кодирующего PRT2 с SEQ ID NO:9 или функциональные гомологи каждого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности.

Таким образом, генотип II может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 гена:

1) ген, кодирующий PRT2 с SEQ ID NO:7 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним;

2) ген, кодирующий PRT2 с SEQ ID NO:8 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий PRT2 с SEQ ID NO:9 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

Таким образом, генотип II может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит 3 гена, выбранных из группы, состоящей из:

1) гена, кодирующего PRT2 с SEQ ID NO:7;

2) гена, кодирующего PRT2 с SEQ ID NO:8 и

3) гена, кодирующего PRT2 с SEQ ID NO:9.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип II может заключаться в том, что дрож-

жевая клетка содержит по меньшей мере 2 аллельных гена, кодирующих PTR2. Например, генотип II может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит по меньшей мере два аллельных гена, кодирующих PTR2, независимо выбранных из группы, состоящей из генов, кодирующих PTR2 с SEQ ID NO:7, PTR2 с SEQ ID:8, PRT2 с SEQ ID NO:9, PRT2 с SEQ ID NO:37, PRT2 с SEQ ID NO:38, PRT2 с SEQ ID NO:43, PRT2 с SEQ ID NO:44 и функциональные гомологи каждого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип II может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 2 аллельных гена:

1) ген, кодирующий PRT2 с SEQ ID NO:37 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним;

2) ген, кодирующий PRT2 с SEQ ID NO:38 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип II может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 2 аллельных гена:

1) ген, кодирующий PRT2 с SEQ ID NO:43 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним;

2) ген, кодирующий PRT2 с SEQ ID NO:44 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

PRT2 является транспортером для ди- и трипептидов, а также других пептидов в дрожжевую клетку.

Дрожжевая клетка может, например, иметь генотип II в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, где дрожжевая клетка имеет характеристики III, IV и/или V, как, например, в соответствии с вариантом осуществления, где дрожжевая клетка имеет характеристики III и/или IV.

Генотип III.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь генотип III, причем генотип III характеризуется наличием гена, кодирующего UBR1. В частности, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением содержала ген, кодирующий UBR1, содержащий SEQ ID NO:10, или UBR1 с SEQ ID NO:11 или функциональный гомолог любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним. Предпочтительно генотип III характеризуется наличием по меньшей мере двух генов, кодирующих UBR1, содержащий SEQ ID NO:10, или UBR1 с SEQ ID NO:11 или функциональный гомолог любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

Например, генотип III может характеризоваться наличием следующих 2 генов: 1) гена, кодирующего UBR1, содержащий с SEQ ID NO:10 или SEQ ID NO:45, или функциональные гомологи любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий UBR1 с SEQ ID NO:11 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним. В частности, генотип III может характеризоваться наличием следующих 2 генов:

1) гена, кодирующего UBR1 содержащий SEQ ID NO:10; и

2) гена, кодирующего UBR1 с SEQ ID NO:11.

Дрожжевая клетка может, например, иметь генотип III в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, где дрожжевая клетка имеет характеристики III и/или IV.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения генотип III заключается в том, что дрожжевая клетка содержит по меньшей мере один аллельный ген, кодирующий UBR1, выбранный из группы, состоящей из UBR1, содержащего SEQ ID NO:10, UBR1 с SEQ ID NO:11, UBR1, содержащего SEQ ID NO:41, UBR1 с SEQ ID NO:42, UBR1, содержащего SEQ ID NO:45, и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения генотип III заключается в том, что дрожжевая клетка содержит по меньшей мере два аллельных гена, кодирующих UBR1, неза-

висимо выбранный из группы, состоящей из UBR1, содержащего SEQ ID NO:10, UBR1 с SEQ ID NO:11, UBR1 содержащего SEQ ID NO:41, UBR1 с SEQ ID NO:42 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

Например, генотип III может характеризоваться наличием следующих 2 генов: 1) гена, кодирующего UBR1, содержащий SEQ ID NO:41, или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий UBR1 с SEQ ID NO:42 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

Дрожжевая клетка может, например, иметь генотип III в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, где дрожжевая клетка имеет характеристики III, IV и/или V, как, например, в соответствии с вариантом осуществления, где дрожжевая клетка имеет характеристики III и/или IV.

Генотип IV.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь генотип IV, причем генотип IV характеризуется наличием по меньшей мере 3 аллельных генов, предпочтительно по меньшей мере 4 аллельных генов, кодирующих IMA1p. В частности, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением содержала по меньшей мере 4 аллельных гена, кодирующих IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

IMA1p может кодироваться различными аллелями, например коротким аллелем IMA1 или длинным аллелем IMA1. Одна дрожжевая клетка может содержать как длинные, так и короткие аллели IMA1. В соответствии с одним вариантом осуществления, может быть предпочтительным, чтобы дрожжевая клетка по настоящему изобретению содержала по меньшей мере 3 длинных аллеля, кодирующих IMA1p.

Например, генотип IV может характеризоваться наличием по меньшей мере 2 коротких аллелей IMA1. Указанные два коротких аллеля IMA1 могут представлять собой гены, кодирующие IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления генотип IV может характеризоваться наличием по меньшей мере 3 коротких аллелей IMA1. Указанные 3 коротких аллеля IMA1 могут представлять собой аллельные гены, кодирующие IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:1, IMA1p с SEQ ID NO:2, IMA1p с SEQ ID NO:3, IMA1p с SEQ ID NO:4, IMA1p с SEQ ID NO:5, IMA1p с SEQ ID NO:33 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

Например, генотип IV может характеризоваться наличием по меньшей мере 2 длинных аллелей IMA1. Указанные два длинных аллеля IMA1 могут представлять собой гены, кодирующие IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип IV может характеризоваться наличием по меньшей мере 3 длинных аллелей IMA1. Указанные 3 длинных аллеля IMA1 могут представлять собой гены, кодирующие IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:3, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления генотип IV может характеризоваться наличием по меньшей мере 3 коротких аллелей IMA1 и по меньшей мере 2 длинных аллелей IMA1, причем

а) указанные 3 коротких аллеля IMA1 независимо являются генами, кодирующими IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:1, IMA1p с SEQ ID NO:2, IMA1p с SEQ ID NO:3, IMA1p с SEQ ID NO:4, IMA1p с SEQ ID NO:5, IMA1p с SEQ ID NO:33 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, пред-

почтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

б) указанные 2 длинных аллеля IMA1 независимо являются генами, кодирующими IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15, IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:23, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип IV может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит по меньшей мере 5 аллельных генов, кодирующих IMA1p, причем указанные аллельные гены независимо выбраны из группы, состоящей из генов, кодирующих IMA1p с SEQ ID NO:1, IMA1p с SEQ ID NO:2, IMA1p с SEQ ID NO:3, IMA1p с SEQ ID NO:4, IMA1p с SEQ ID NO:5, IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15, IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:23, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и IMA1p с SEQ ID NO:33.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип IV может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 4 аллельных гена:

1) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:12 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:13 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:14 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

4) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:15 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип IV может характеризоваться наличием следующих 4 аллельных генов:

1) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:12; и

2) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:13; и

3) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:14; и

4) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:15.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип IV может характеризоваться наличием следующих 3 аллельных генов:

1) двух генов, оба из которых кодируют IMA1p с SEQ ID NO:21 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:22 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип IV может характеризоваться наличием следующих 3 аллельных генов:

1) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:23 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:24 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:25 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип IV может характеризоваться наличием следующих 5 аллельных генов:

3) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:12 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

4) гена, кодирующего IMA1p с SEQ ID NO:13 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как,

80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления дрожжевая клетка содержит по меньшей мере два аллельных гена, кодирующих IMA5p, независимо выбранных из аллельных генов, кодирующих IMA5p с SEQ ID NO:16, IMA5p с SEQ ID NO:17, IMA5p с SEQ ID NO:34, IMA5p с SEQ ID NO:35, IMA5p с SEQ ID NO:36 и функциональные гомологи любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В частности, генотип V может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 2 аллельных гена:

1) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:16 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:17 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип V может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 аллельных гена:

1) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:16 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:17 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:34 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип V может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 2 аллельных гена:

1) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:35 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:36 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В частности, генотип V может характеризоваться наличием следующих 2 генов:

1) гена, кодирующего IMA5p с SEQ ID NO:16; и

2) гена, кодирующего IMA5p с SEQ ID NO:17.

Дрожжевая клетка может, например, иметь генотип V в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, где дрожжевая клетка имеет характеристики I, II, IX и/или XI.

Генотип VI.

Дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением может иметь генотип VI, причем генотип VI характеризуется наличием по меньшей мере 3 аллельных генов, кодирующих AGT1. В частности, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением содержала по меньшей мере 3 аллельных гена, кодирующих AGT1, выбранный из группы, состоящей из AGT1 с SEQ ID NO:18, AGT1 с SEQ ID NO:19, AGT1 с SEQ ID NO:20, AGT1 с SEQ ID NO:26, AGT1 с SEQ ID NO:27, AGT1 с SEQ ID NO:28, AGT1 с SEQ ID NO:29, AGT1 с SEQ ID NO:30, AGT1 с SEQ ID NO:31, AGT1 с SEQ ID NO:32 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления дрожжевая клетка может иметь генотип VI, причем генотип VI характеризуется наличием по меньшей мере 2 аллельных генов, кодирующих полноразмерный AGT1. В частности, предпочтительно, чтобы дрожжевая клетка в соответствии с настоящим изобретением содержала по меньшей мере 2 аллельных гена, кодирующих AGT1, выбранный из группы, состоящей из AGT1 с SEQ ID NO:18, AGT1 с SEQ ID NO:19, AGT1 с SEQ ID NO:20, AGT1 с SEQ ID NO:27, AGT1 с SEQ ID NO:28, AGT1 с SEQ ID NO:30, AGT1 с SEQ ID NO:31, AGT1 с SEQ ID NO:32 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип VI может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 аллельных гена:

1) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:18 или его функциональный гомолог по меньшей мере с

80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:19 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:20 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В частности, генотип VI может характеризоваться наличием следующих 3 аллельных генов:

1) гена, кодирующего AGT1 с SEQ ID NO:18; и

2) гена, кодирующего AGT1 с SEQ ID NO:19; и

3) гена, кодирующего AGT1 с SEQ ID NO:20.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип VI может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие два гена, кодирующих AGT1:

1) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:27 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:28 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

В соответствии с одним вариантом осуществления генотип VI может заключаться в том, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 аллельных гена, кодирующих AGT1:

1) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:30 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:31 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:32 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

Дрожжевая клетка может, например, иметь генотип VI в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, где дрожжевая клетка имеет характеристики I, II, IX и/или XI.

Функциональный гомолог.

Применяемый в настоящем документе термин "функциональный гомолог" означает полипептид по меньшей мере с одной общей биологической функцией с эталонным полипептидом. Обычно указанный функциональный гомолог также имеет значительную идентичность последовательности с эталонным полипептидом. Предпочтительно функциональный гомолог эталонного полипептида представляет собой полипептид, который имеет такую же биологическую функцию, что и эталонный белок, и который характеризуется высоким уровнем идентичности последовательности с эталонным полипептидом.

Высокий уровень идентичности последовательностей указывает на вероятность того, что первая последовательность получена от второй последовательности. Под идентичностью аминокислотных последовательностей подразумевают идентичные аминокислотные последовательности у двух выравниваемых последовательностей. Таким образом, под кандидатной последовательностью с 80% аминокислотной идентичностью с эталонной последовательностью подразумевают, что после выравнивания 80% аминокислот у кандидатной последовательности идентичны соответствующим аминокислотам у эталонной последовательности. Идентичность в соответствии с настоящим изобретением определяют с помощью компьютерного анализа, такого как без ограничения компьютерная программа для выравнивания ClustalW (Higgins D., Thompson J., Gibson T., Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22:4673-4680) и предложенные в ней параметры по умолчанию. Программное обеспечение ClustalW доступно как WWW сервис ClustalW на сайте Европейского института биоинформатики <http://www.ebi.ac.uk/clustalw>. С помощью этой программы с настройками по умолчанию выравнивают зрелую (биоактивную) часть запрашиваемого и эталонного полипептида. Подсчитывают количество полностью консервативных остатков и делят на длину эталонного полипептида. Таким образом определяют идентичность последовательности по всей длине эталонного полипептида.

Может быть предпочтительным, чтобы консервативные аминокислоты сохранялись в функциональном гомологе. Консервативные аминокислоты можно выявить путем осуществления выравнивания схожего полипептида и с помощью указанного выравнивания выявления аминокислотных остатков, которые являются консервативными для данных полипептидов. Примеры пригодных выравниваний показаны в настоящем документе на фиг. 5-12.

Способ получения напитка.

В соответствии с одним из аспектов настоящее изобретение относится к способам получения напитка, причем указанные способы предусматривают стадии:

VIII) получения исходной жидкости;

IX) получения дрожжевой клетки по настоящему изобретению, например дрожжевой клетки, имеющей одну или несколько описанных выше характеристик I-X;

X) сбраживания указанной исходной жидкости при помощи указанной дрожжевой клетки с получением тем самым напитка.

Исходная жидкость, в частности, может представлять собой зерновой экстракт, такой как сусло. Указанную исходную жидкость можно, например, получить с помощью приготовления экстракта солода путем затирания и необязательно промывания, как описано в настоящем разделе настоящего документа.

Солод представляет собой зерна ячменя, которые были осоложены. Под термином "осоложивание" следует понимать проращивание замоченных зерен ячменя в процессе, происходящем в контролируемых условиях окружающей среды, с последующей стадией сушки. Указанная стадия сушки предпочтительно может представлять собой сушку проросших зерен в сушильном шкафу при повышенных температурах.

Такая вышеупомянутая последовательность событий осоложивания важна для синтеза многочисленных ферментов, которые обуславливают модификацию зерна, процессы, которые главным образом деполимеризуют клеточные стенки мертвого эндосперма для мобилизации питательных веществ зерна и активации других деполимераз. В процессе последующей сушки в результате химических реакций потемнения образуются аромат и цвет.

Замачивание можно осуществлять согласно любому общепринятому способу, который известен специалисту в настоящей области. Один неограничивающий пример включает замачивание при температуре в диапазоне 10-25°C с чередованием сухих и влажных условий. Проращивание можно осуществлять согласно любому общепринятому способу, который известен специалисту в настоящей области. Один неограничивающий пример включает проращивание при температуре в диапазоне 10-25°C, необязательно с изменением температуры в интервале от 1 до 4 ч.

Сушку в сушильном шкафу можно проводить при обычных температурах, таких как по меньшей мере 75°C, например в диапазоне 80-90°C, к примеру в диапазоне 80-85°C. Таким образом, солод можно получить, например, согласно любому из способов, описанных в работе Briggs и соавт. (1981) и в работе Hough и соавт. (1982). Тем не менее, с настоящим изобретением также можно применять любой другой подходящий способ получения солода, такой как способы получения специальных солодов, включая без ограничения способы жарки солода.

Солод можно дополнительно обработать, например, измельчением. Предпочтительно измельчение выполняют в сухом состоянии, т.е. солод измельчают в процессе сушки.

Солод, например измельченный солод, можно подвергнуть затиранию для получения водного экстракта указанного солода. Исходной жидкостью для приготовления напитка может быть водный экстракт солода, например водный экстракт солода, приготовленный путем затирания.

Таким образом, способ приготовления напитка в соответствии с настоящим изобретением может предусматривать стадию получения сусла путем затирания солода и необязательно дополнительного несоложеного сырья. Указанная стадия затирания может также необязательно предусматривать промывание, и соответственно указанная стадия затирания может быть стадией затирания, включающей стадию промывания, или стадией затирания, исключая стадию промывания.

Как правило, получение сусла начинают с измельчения солода и/или ячменя. При добавлении дополнительного несоложеного сырья, его также можно измельчить в зависимости от его природы. Если несоложеным сырьем являются зерновые, его можно, например, измельчить, тогда как патоки, сахара и тому подобное, как правило, не будут подвергаться измельчению. Измельчение будет облегчать доступ воды к частицам зерна на фазе затирания. В процессе затирания может продолжаться ферментативная деполимеризация субстратов, которая началась во время осоложивания.

Как правило, сусло готовят путем объединения в комбинацию и инкубации измельченного солода и воды, т.е. в процессе затирания. Во время затирания солодово-жидкостная композиция может быть дополнена дополнительными обогащенными углеводами несоложенными композициями, например измельченным ячменным, маисовым или рисовым несоложеным сырьем. Несоложенное злаковое сырье обычно мало содержит или вообще не содержит активных ферментов, что делает важным его дополнение солодовыми или экзогенными ферментами для обеспечения ферментов, необходимых для деполимеризации полисахаридов и т.д.

В процессе затирания, измельченный солод и/или измельченный ячмень, и необязательно дополнительное несоложеное сырье, инкубируют с жидкой фракцией, такой как вода. Температуру инкубирования обычно либо поддерживают постоянной (изотермическое затирание), либо постепенно увеличивают, например увеличивают последовательно. В любом случае, растворимые вещества в солоде/ячмене/несоложеном сырье высвобождаются в указанную жидкую фракцию. Последующая фильтрация обеспечивает разделение сусла и остаточных твердых частиц, последние также называют "пивной

дробиной". Полученное таким образом сусло также можно называть "первым суслом". В пивную дробину можно добавить дополнительную жидкость, такую как вода, во время процесса, также называемого промыванием. После промывания и фильтрации может быть получено "второе сусло". Последующие сусла могут быть получены при повторении процедуры. Неограничивающие примеры подходящих процедур получения сусла описаны в работе Briggs и соавт. (ранее) и в работе Hough и соавт. (ранее).

Как упоминалось выше, композиция сусла может быть получена путем затирания неосоложенных зерен ячменя. Неосоложенные зерна ячменя не содержат или содержат лишь ограниченное количество ферментов, полезных для производства сусла, таких как ферменты, способные разрушать клеточные стенки, или ферменты, способные деполимеризовать крахмал на сахара. Таким образом, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, где для затирания применяют неосоложенный ячмень, предпочтительно, чтобы в затор был добавлен один или несколько подходящих внешних пивоваренных ферментов. Подходящими ферментами могут быть липазы, ферменты, расщепляющие крахмал (например, амилазы), глюканазы [предпочтительно (1-4)- и/или (1-3,1-4)-β-глюканаза], и/или ксиланазы (такие как арабиноксиланаза), и/или протеазы, или смеси ферментов, содержащие один или несколько из вышеупомянутых ферментов, например Cereflo, Ultraflo или Onda Pro (Novozymes).

Композицию сусла можно также приготовить с применением смеси осоложенных и неосоложенных зерен ячменя, и в этом случае во время приготовления можно добавить один или несколько подходящих ферментов. Более конкретно, ячмень по настоящему изобретению можно применять вместе с солодом в любой комбинации для затирания, с или без внешних пивоваренных ферментов, например без ограничения в пропорции ячмень:солод = примерно 100:0, или примерно 75:25, или примерно 50:50, или примерно 25:75.

В соответствии с другими вариантами осуществления настоящего изобретения предпочтительно, чтобы до или во время затирания не были добавлены никакие внешние ферменты, в частности ни внешняя протеаза, и/или ни внешняя целлюлаза, и/или ни внешняя α-амилаза, и/или ни внешняя β-амилаза, и/или ни внешняя мальтогенная α-амилаза.

Полученное после затирания сусло также может называться "сладким суслом". В соответствии с традиционными способами, сладкое сусло кипятят с хмелем или без него, при этом после этого его могут называть прокипяченным суслом.

Применяемый в настоящем документе термин "примерно" означает ±10%, предпочтительно ±5%, еще более предпочтительно ±2%.

Сусло можно нагреть или прокипятить до того, как его подвергнут сбраживанию дрожжами по настоящему изобретению. Первое, второе и последующие сусла могут быть объединены, а затем подвергнуты нагреванию или кипячению. Сусло можно нагреть или прокипятить в течение любого подходящего периода времени, например в интервале от 60 до 120 мин.

Таким образом, исходная жидкость может представлять собой сусло, например, полученное, как описано выше. Напиток может быть приготовлен путем сбраживания исходной жидкости, например, путем сбраживания сусла.

В соответствии с одним предпочтительным вариантом осуществления напиток может представлять собой солодовые напитки, еще более предпочтительно полученные посредством брожения напитки, такие как полученные посредством брожения солодовые напитки, предпочтительно алкогольные напитки, такие как пиво.

Напиток может быть безалкогольным напитком, таким как безалкогольное пиво или другие виды безалкогольных напитков, такие как безалкогольные солодовые напитки, такие как мальтина.

В соответствии с одним предпочтительным вариантом осуществления напиток представляет собой пиво, например пиво может быть лагерным пивом или элем. Таким образом, пиво можно, например, выбрать из группы, состоящей из альтбира, янтарного эля, ячменного вина, берлинского пшеничного пива, Бьер-де-Гарда, горького пива, блонд эля, пива сорта бок, бурого эля, пива сорта Калифорния Коммон, кремового эля, пива сорта Дортмундер Экспорт, допельбока, пива сорта Дункель, темного пшеничного пива (Dunkelweizen), айсбока, фруктового ламбика, золотого эля, пива сорта Гозе, пива сорта Хейзе, пшеничного пива (Hefeweizen), пива сорта Хеллес, индийского пейл-эля, пива сорта Келып, ламбика, светлого эля, майбока, солодового ликера, мягкого пива, мартовского пива (Marzenbier), старого эля, фландрийского коричневого эля (Oud bruin), пейл-эля, пильзнера, портера, красного эля, ржаного пива (Roggenbier), сезонного пива (Saison), шотландского эля, парового пива, стаута, черного пива (Schwarzbier), лагера, белого пива (Witbier), пшеничного нефильтрованного светлого пива (Weissbier) и пшеничного бока (Weizenbock).

Таким образом, настоящее изобретение также относится к способам получения напитка, предусматривающим стадии:

- (i) получения солодовой композиции;
- (ii) переработки указанной солодовой композиции в напиток.

В целом, алкогольные напитки, такие как пиво, могут быть изготовлены из осоложенных и/или неосоложенных зерен ячменя. Солод, в дополнение к хмелю и дрожжам, вносит свой вклад во вкус и цвет

пива. Кроме того, солод функционирует как источник сбраживаемого сахара и ферментов. Неограничивающие описания примеров подходящих способов осоложивания и пивоварения можно найти, например, в публикациях Briggs и соавт. (1981) и Hough и соавт. (1982). Существуют множество регулярно обновляемых способов анализа ячменных, солодовых и пивных продуктов, например, без ограничения, от Американской ассоциации специалистов по химическим исследованиям злаков (1995), Американской ассоциации специалистов по химическим исследованиям пивоварения (1992 год), по Европейской конвенции о пивоварении (1998 год) и от Института пивоварения (1997). Общеизвестно, что в заданной пивоварне используют множество конкретных процедур, причем наиболее значительные вариации касаются местных потребительских предпочтений. В соответствии с настоящим изобретением можно применять любой такой способ производства пива.

Первая стадия производства пива из суслу предпочтительно предусматривает нагревание указанного суслу, как описано выше в настоящем описании, за которой идет последующая фаза охлаждения суслу и необязательно отстоя в гидроциклонном чане. После охлаждения суслу может быть перенесено в броуильные танки, содержащие дрожжи по настоящему изобретению, то есть дрожжи, имеющие одну или несколько описанных выше характеристик I-X. Суслу будут сбраживать в течение любого подходящего периода времени, обычно в диапазоне от 1 до 100 дней. Сбраживание осуществляют при любой пригодной температуре, например при температуре в диапазоне 10-20°C.

В течение многодневного процесса брожения сахар превращается в спирт и CO₂ одновременно с образованием некоторых ароматических веществ.

После этого пиво можно дополнительно обработать, например охладить. Его также можно профильтровать и/или выдерживать в лагерном подвале - процесс, в ходе которого развивается приятный аромат и уменьшается дрожжевой привкус. Также можно добавить добавки. Кроме того, можно добавить CO₂. Наконец, пиво можно пастеризовать и/или профильтровать перед его упаковкой (например, в бутылки или банки).

Пиво, произведенное путем сбраживания дрожжами по настоящему изобретению, обычно имеет превосходный приятный вкус. Вкус может быть проанализирован, например, комиссией специалистов по дегустации пива. Предпочтительно указанная комиссия подготовлена для дегустации и описания вкусоароматических характеристик пива с особым акцентом на альдегиды, бумажный привкус, вкус выдержанности, сложные эфиры, высшие спирты, жирные кислоты и сернистые компоненты.

Обычно комиссия по дегустации будет состоять в диапазоне от 3 до 30 членов, например в диапазоне от 5 до 15 членов, предпочтительно в диапазоне от 8 до 12 членов. Комиссия по дегустации может оценивать наличие различных вкусоароматических характеристик, таких как бумажный, окисленный, выдержанный и хлебные привкусы, а также вкусоароматические характеристики сложных эфиров, высших спиртов, сернистых компонентов и тела пива.

Перечень последовательностей

SEQ ID NO:1	Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1p, кодируемая уникальным аллелем, от гибридных дрожжей 1.
SEQ ID NO:2	Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1p от гибридных дрожжей 4
SEQ ID NO:3	Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1p от гибридных дрожжей 4
SEQ ID NO:4	Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1p от гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:5	Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1p от гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:6	Аминокислотная последовательность DAL5, кодируемая Sc аллелем от гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:7	Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая Sc аллелем от элевых дрожжей 1
SEQ ID NO:8	Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая Sc аллелем от лагерных дрожжей 1
SEQ ID NO:9	Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая отличным от Sc аллелем от гибридных дрожжей 1.
SEQ ID NO:10	Частичная аминокислотная последовательность UBR1, кодируемая Sc аллелем от гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:11	Аминокислотная последовательность UBR1, кодируемая отличным от Sc аллелем от гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:12	Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая коротким Sc аллелем от гибридных дрожжей 1

SEQ ID NO:13	Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая коротким Sc аллелем от гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:14	Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным Sc аллелем от гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:15	Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным Sc аллелем от гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:16	Аминокислотная последовательность IMA5p от гибридных дрожжей 1, кодируемая отличным от Sc, IMA5-подобным аллелем
SEQ ID NO:17	Аминокислотная последовательность IMA5p от гибридных дрожжей 1, кодируемая Sc-IMA5-подобным аллелем
SEQ ID NO:18	Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 1, кодируемая отличным от Sc аллелем
SEQ ID NO:19	Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 1, кодируемая Sc аллелем
SEQ ID NO:20	Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 1, кодируемая Sc аллелем
SEQ ID NO:21	Аминокислотная последовательность IMA1p от гибридных дрожжей 4, кодируемая длинным аллелем IMA1
SEQ ID NO:22	Аминокислотная последовательность IMA1p от гибридных дрожжей 4, кодируемая длинным аллелем IMA1
SEQ ID NO:23	Аминокислотная последовательность IMA1p от гибридных дрожжей 7, кодируемая длинным аллелем IMA1
SEQ ID NO:24	Аминокислотная последовательность IMA1p от гибридных дрожжей 7, кодируемая длинным аллелем IMA1
SEQ ID NO:25	Аминокислотная последовательность IMA1p от гибридных дрожжей 7, кодируемая длинным аллелем IMA1
SEQ ID NO:26	Аминокислотная последовательность укороченного AGT1 от гибридных дрожжей 4, кодируемая Sc аллелем
SEQ ID NO:27	Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 4, кодируемая отличным от Sc аллелем
SEQ ID NO:28	Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 4, кодируемая отличным от Sc аллелем

SEQ ID NO:29	Аминокислотная последовательность укороченного AGT1 от гибридных дрожжей 7, кодируемая Sc аллелем
SEQ ID NO:30	Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 7, кодируемая Sc аллелем
SEQ ID NO:31	Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 7, кодируемая отличным от Sc аллелем
SEQ ID NO:32	Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 7, кодируемая отличным от Sc аллелем
SEQ ID NO:33	Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1p от гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:34	Аминокислотная последовательность IMA5 от гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:35	Аминокислотная последовательность IMA5 от гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:36	Аминокислотная последовательность IMA5 от гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:37	Частичная аминокислотная последовательность PTR2 от гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:38	Аминокислотная последовательность PTR2 гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:39	Аминокислотная последовательность DAL5 гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:40	Аминокислотная последовательность DAL5 гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:41	Частичная аминокислотная последовательность UBR1 гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:42	Аминокислотная последовательность UBR1 гибридных дрожжей 7
SEQ ID NO:43	Аминокислотная последовательность PTR2 гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:44	Аминокислотная последовательность PTR2 гибридных дрожжей 1
SEQ ID NO:45	Частичная аминокислотная последовательность UBR1 гибридных дрожжей 1

SEQ ID NO:1. Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1 от гибридных дрожжей_1

```

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPK
RDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPD LNWENEDCR
KAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGSLSYKVVGLPDAFVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFH
QEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELPNFSHTDVGTSPLFRYN
LVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLL
SALTGTLYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEGIALVS
RDHARTPMPWTPNEPNAGFSGPNTKPFWYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRK
NHKDIAVYGFDFKFI DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKI PNDGSSFKLEFGN
YPRNEVDASSRTLKPWEGRIHINE.

```

4

SEQ ID NO:2. Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1 от гибридных дрожжей

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPK
 RDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLRFCSTQPDLNWENEDCR
 KAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGS LYSKVVG LPAFVVDKNS TWQSSDPYTLNGPRIHEFH
 QEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYN
 LVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDPQRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLL
 SALTGTLVYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEGIALVS
 RDHARTPMPWTPNEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRK
 NHKDIAVYGFDFKFI DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGN
 YPKNEVDASSRTLKPWEGR IYINE

SEQ ID NO:3. Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1 от гибридных дрожжей_4_

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPK
 RDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLRFCSTQPDLNWENEDCR
 KAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGS LYSKVVG LPAFVVDKNS TWQSSDPYTLNGPRIHEFH
 QEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYN
 LVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDPQRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLL
 SALTGTLVYVYQGQELGQINFKNWVVEKYEDVEIRNNYRLIKEECGENSEEMKKFLEGIALVS
 RDHARTPMPWTPNEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRK
 NHKDIAVYGFDFKFI DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGN
 YPKNEVDASSRTLKPWEGR IYINE.

SEQ ID NO:4. Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1 от гибридных дрожжей_7_

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPK
 RDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLRFCSTQPDLNWENEDCR
 KAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGS LYSKVVG LPAFVVDKNS TWQSSDPYTLNGPRIHEFH
 QEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYN
 LVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDPQRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLL
 SALTGTLVYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEGIALVS
 RDHARTPMPWTPNEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRK
 NHKDIAVYGFDFKFI DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGN
 YPKNEVDVSSRTLKPWEGR IYINE.

SEQ ID NO:5. Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1 от гибридных_7_

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGMKFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPK
 RDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLRFCSTQPDLNWENEDCR
 KAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGS LYSKVVG LPAFVVDKNS TWQSSDPYTLNGPRIHEFH
 QEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYN
 LVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDPQRSITRFGDDSPKNRVISGKLLSVLL
 SALTGTLVYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFLEGIALVS
 RDHARTPMPWTPNEPNAGFSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRK
 NHKDIAVYGFDFKFI DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGN
 YPKNEVDASSRTLKPWEGR IYINE.

SEQ ID NO:6. Аминокислотная последовательность DAL5, кодируемая Sc аллелем от гибридных дрожжей 1

MSADASTNSNASLDEKNLITSEAEIKNEDVTAEPVLSTVLS PNGKIVYISDKVDEAMKLAE
 EAKEIEVTP EEDRKL RWKIDYCMFPLMCILYAVQFMDKISTSSAAVMGLRTDLKMHGDQYSW
 VTSAFYFGYLFMNLGPVQFIQRTSHMSKMLAVFIVIWGMLLALHAAPTVKYPSFIVLRVLL
 GCAESVVTPCFTIITAQYWKTEEQFTRVSIWFGMNLGSLILINAIYGVYIHQDSYAIKQWR
 TLFVITGVITIFIGILIFLWIPDDPSKARFLSKREKLMVVQIRISNQGFGNHEIKKYQIEE
 ALKDVRTWLYFLFTVSSNIPNGGISSEMSILLNSDFGYSSKETLLMGLPTGAVELVGCPLFG
 ILAVYAANKKIPFWKYKLSWAIFAAVLALIASCMLGFATNSKKARLAGAYLWYISPVSFICV
 LSNISANSSGYSKKTWVSSINLVAYAAANLAGPQTFIAKQAPKYHGAKVAMVVCYAVMIVLL
 SILLIVNLRENKRRDKIAAERGFP EETENLEFSDLTDFENPNFRYTL.

SEQ ID NO:7. Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая Sc аллелем от элевых дрожжей 1

```
MLNHPSQGSDDAQDEKQGDFFVIEEEKTQAVMLKDSYVSDDVANSTERYNLSFSPPEDEDFEA
PTEEEMQTLRHVGGKIPMRCWLIAIVELSERFSYYGLSAPFQNYMEYGPNDSPKGVLSLNSQ
GATGLSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWGKYNTICCGTAIYIAGIFILFITSIPSVGNRDSA
IGGFIAAIIILIGIATGMIKANLSVLIADQLPKRKPSIKVLKSGERVIVDSNITLQNVFMFFY
FMINVGSLSLMTATELEYHKGFWAAAYLLPFCFFWIAVVTLIFGKKQYIQRPIGDKVIAKSFK
VCWILTKNKFDFNAAKPSVHPEKNYPWNDKFVDEIKRALAACKVFIYPIYWTQYGTMISSF
ITQASMMELHGI PNDFLQAFDSIALIIFIPIFEKQVYPIRIRYTPPKPITKIFXGFMFGSFA
MTWAAVLQSFVYKAGPWYNEPLGHNTPNHVHVCWQIPAYVLISFSEIFASITGLEAYASKAP
ASMKSFIMSI FLLTNAFGSAIGCALSPVTVDPKFTWLTGLAVACFISGCLFWLCFRKYNDT
EEMNAMDYEEENEFDLNPISAPKANDIEILEPMDSLRSTAKY.
```

SEQ ID NO:8. Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая Sc аллелем от лагерных дрожжей 1

```
MLNHPSQGSDDAQDEKQGDFFVIEEEKTQAVTLKDSYVSDDVANSTERYNLSFSPPEDEDFEA
PTEEEMQTLRHVGGKIPMRCWLIAIVELSERFSYYGLSAPFQNYMEYGPNDSPKGVLSLNSQ
GATGLSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWGKYNTICCGTAIYIAGIFILFITSIPSVGNRDSA
IGGFIAAIIILIGIATGMIKANLSVLIADQLPKRKPSIKVLKSGERVIVDSNITLQNVFMFFY
FMINVGSLSLMTATELEYHKGFWAAAYLLPFCFFWIAVVTLIFGKKQYIQRPIGDKVIAKSFK
VCWILTKNKFDFNAAKPSVHPEKNYPWNDKFVDEIKRALAACKVFIYPIYWTQYGTMISSF
ITQASMMELHGI PNDFLQAFDSIALIIFIPIFEKQVYPIRIRYTPPKPITKIFFGFMFGSFA
MTWAAVLQSFVYKAGPWYNEPLGHNTPNHVHVCWQIPAYVLISFSEIFASITGLEAYASKAP
ASMKSFIMSI FLLTNAFGSAIGCALSPVTVDPKFTWLTGLAVACFISGCLFWLCFRKYNDT
EEMNAMDYEEENEFDLNPISAPKANDIEILEPMEISRSTTKY
```

SEQ ID NO:9. Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая отличным от Sc аллелем от гибридных дрожжей 1

```
MLNHLSQGSDDIQDEKQGDFFVIEEKNQTVTLKDSYVSDDAANSTEHYNLSFPLEEDEFEA
PTDEELRSLRHVGGKIPMRCWLIAIVELSERFSYYGLSAPFQNYMEYGPKDTPKGVLNSLNSQ
GATGLSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWGKYNTICCGTAIYIAGIFILLITSIPSVGNRDSA
LGGFIASIIILIGIATGMIKANLSVLIADQLPKRKPSIKVLKSGERVIVDSNITLQNVFMFFY
FMINVGSLSLMTATELEYHKGFWAAAYLLPFCFFWVAVVTLVFGKKQYIQRPIGDKVIAKSF
VCWILTKNKFDFNAAKPSVHPEKEYPWNDKFVDEIKRALAACKVFVFIYPIYWTQYGTMISSF
ITQAGMMELHGI PNDFLQAFDSIALIIFIPIFEKFIYPIRIRYTPPKPITKIFFGFMFGSLA
MTWAAVLQSFVYKAGPWYSAPLGHNTPNHVHVCWQIPAYVLISFSEIFASITGLEAYASKAP
ASMKSFIMSI FLLTNAFGSAIGCALSPVTVDPKFTWLTGLAVACFISGCLFWFCFRKYNDT
EEMNAMDYEEENEFDLNPISQPKGNDIEILEPMGLKSTTKY
```

SEQ ID NO:10. Неполная аминокислотная последовательность UBR1, кодируемая Sc аллелем гибридных дрожжей 1

```
FKEFCVVEGGVLIWQRVQKSNLTKSYSISFKQGLYTVETLLSKVHDPNIPLRPKEIISLLTL
CKLFNGAWKIKRKEGHEHVLHEDQNFIISYLEYTTSIYSIIQTAEKVSEKSKDSIDSKLFLNAI
RIISSFLGNRSLTYKLIYDSHEVIKFSVSHERVAFMNPLQTMLSFLIEKVS LKDAYEALEDC
SDFLKISDFSLRSVVLCSQIDVGFWRVNGMSVLHQASYKNNPELGSYSRDIHLNQLAILWE
RDDIPRIIYNILDRWELLDWFTGEVDYQHTVYEDKISFIIQQFIAFIYQILTERQYFKTFSS
LKDRRMDQIKNSIIYNLYMKPLSYSKLLRSVPDYLTEDTTEFDEALEEVSFVFEKGLADNG
VFFLKASLYAKVDPLKLLNLENEFESS
```

SEQ ID NO:11. Аминокислотная последовательность UBR1, кодируемая отличным от Sc аллелем гибридных дрожжей 1

MSFTDNLGSLKAHIRRTLRSIHNLPHYFRFRGPTERADMSRALKEFIYRYLYFIISNDGEN
LSTLFTAHPKQKSSNQELAVFPESLEDALDVKITSQGTFFPYKIDESKIGDVHKHTGRNCG
RKFKEIPELYRCHCEGDDTCLVCIHCFNPKDHNHVVCTDICSEFTSGICDCGDEEAWNSS
LHCKAEEQGNDSSEDPNFDSTKQKDVWNDPECIALVELVLSEVFDYFIDVFNQNIPLPTI
QKDIITIKLREMTQQGKMYERAQFLNDLKYENDYMFDTTAKTSPSNSPEASPSLAKIDPEN
YTVIIYNDEYHNYSQATTALRQGVDPNVHIDLTSRIDGEGRAMLKCSQDLSSVLGGFFAVQ
TNGLSATLTSWSEYLIHQEACKYIILWITHCLNIPNPSFQITFRNMMGKSLCSEYLNATESRD
MTPVVEKYFSTKFKDDPYRYIDLSVLAEGNQIPLGHHKVLPESSTHSLSTLINDVENLTSK
EYSNTRLQHILYFDNRYWKRRLKDIQNVIIPTLASSTLYKPIFCQQVVEIFNHITRSVAYMD
REPQLTAIRECVVQLFTCPNTRNI FENQSFLDILWSIIDIFKEFKVEAGVLIWQRVQKSN
LTKSYLSFKQGLYTVETLLSKVNDPNITIRPKVFSLLTLGKLFNGAWKIKRKEGEHVLHE
DQNFISYLEYTTSIYSIIQTAEKVLEKSHDSLNLVLAIRIVSFLGNRSITYKLIYDSH
EIIKFSVSHERVAFMNPIQTMLSFLIEKVS LKDAYESLENCDFLKIADFSLRSVLCSEQID
VGFWRNMGMSVLHQASYYKNNPELGSYSRDIHLNQLAIWERRDLPRVYINILDRWELLDWF
MGEAEYQHTVYEDKISFMIQQFIAFIYQILTERQYFKTFSLLRDRRMDMIKNSIMYNLYMKP
LSYKLLKSPDYLTDDTTEFDEALEEVSVFVEPKGLADNGVFKLKAALYAKIDPLKLLNLE
NEFESSATIIKTHLAKNKDEVSKVLI PQVSTKLLDKGAMNLGEFTRNTVFAKVIYKLLQVC
LDMEDSTFLNELLHLVHGI FKDELINGKDSIPEAYLAKPICNLLS IANAKSDI FSESIVR
KADYLLEKIMMKPDEIFESLIASFGNQYIDNYKDKKLSQGVNLQETEKERKRRMAKKHQAR
LLAKFNQQSKFMKEHESEFDEQDNDVMDGKVESEDFTCALCQDSSSTDFVVI PAYHDH
TPIFRPGNIFNPREFMAKWDGFYNDKQAYIDDEVLESKENGTRGSRKVFVSCNHHIHN
CFKRYVQKRFSSNAFICPLCQTFNSCTLPICPTSRANTGLSLDMFLKSELSLDILSRLFKP
FTEDNYRTINSIFSLMVSQCQGFQKVVVKHVNFTHKDVS LVLVSVHWANTISMLEVASRLEKP
HNISFFRSREQKYKTLKNILICIMLFTFVI GKPSMEFEPYPVESDIICNQQLFQYIVRKS
LFS PASLRETITEALTVFCKQFLDDFVQGLSDAEQVDKLYTEAKKLDVYNVDESILITLMSI
TVVKTEGLSRSIYDLAYTSLLSLLEPTIRRCILVMVKVHLHELVKDSENETMVIDGDFVEEEL
EFEGLPGFVDKALKLITDKESFVDFKTKQAI VPSHPYLERIPY EYCGIVKLI DLSKFLNTY
VTQSKETKREERSQHMKNADNR LDFKICLTCGVKVLHRADRHEMTKHLNKNCFKSFGAFLM
PNSSEVCLHLTQPPSNI FVSAPYLNSHGEVGRNAMRRGDLTTLNLKRYEHLNRLWINNEIPG
YISRVMGDEFVRTILSNGFLFAFNREPRRVPPTDEDEDEMEEGEEGFTEENDMDVDDE
TGQAANLFGVGAEGIGDGGVRNFQFFENFRNTLQPQGNDEADAPQNPPPI LQFLGPQFDGA
TIIRNTNQRNLDEDDSENDDSDEREIW

SEQ ID NO:12. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая коротким Sc аллелем от гибридных дрожжей 1

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPK
RDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPD LNWENEDCR
KAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGS LYSKVVG LPAVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFH
QEMNQFIRNRVKGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYN
LVPFELKDWKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHDQPRSI TRFGD DSPKNRVISGKLLSVLL
SALTGTLYVYQGQELGQINFKNWSVEKYEDVEIRNNYRLIKEECGENSEEMKKFLEGIALVS
RDHARTPMPWTPNEPNAGFS GPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRK
NHKDI AVYGFDFKFI DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKI PNDGSSFKLEFGN
YPKNEVDASSRTLKPWEGRIHINE

SEQ ID NO:13. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая коротким Sc аллелем от гибридных дрожжей 1

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSSSEHEWFKESRSSKTNPK
RDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPD LNWENEDCR
KAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGS LYSKVVG LPAVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFH
QEMNQFIRNRVKGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYN
LVPFELKDWKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHDQPRSI TRFGD DSPKNRVISGKLLSVLL
SALTGTLYVYQGQELGQINFKNWSVEKYEDVEIRNNYRLIKEECGENSEEMKKFLEGIALVS
RDHARTPMPWTPNEPNAGFS GPNTKPFYLNESFRQGINVEEEQKNSDSVLAFWKKALEFRK
NHKDI AVYGFDFKFI DLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKI PNDGSSFKLEFGN
YPKNEVDASSRTLKPWEGRIHINE

SEQ ID NO:14. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным Sc аллелем от гибридных дрожжей 1

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSKLEYIKELGVDAIWIWSP
YDSPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSEHEWFKESR
SSKTNPKRDWSFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPGGSAAWTFDEKTOEFYLRLLFCSTQPDLN
WENEDCRKAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNG
PRIHEFHQEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGT
SPLFRYNLVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISG
KLLSVLLSALTGTLYVYQGGELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFL
EGIALVSRDHARTPMPWTPNEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLFNFK
EALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLNDKLLFSFTKKNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSS
FKLEFGNYPKKEVDASSRTLKPWEGRYIYSE

SEQ ID NO:15. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным Sc аллелем от гибридных дрожжей 1

MTISSAHPEAEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSKLEYIKELGADAIWISPF
YDSPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSEHEWFKESR
SSKTNPKRDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPGGSAAWTFDEKTOEFYLRLLFCSTQPDLN
WENEDCRKAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNG
PRIHEFHQEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKKLYTSASRHELSELFNFSHTDVGT
SPLFRYNLVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHDQPRSITRFGDDSPKNRVISG
KLLSVLLSALTGTLYVYQGGELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFL
EAIALISRDHARTPMQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLFNFK
EALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLNDKLLFSFTKKNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSS
FKLEFGNYPKKEVDASSRTLKPWEGRYIYSE

SEQ ID NO:16. Аминокислотная последовательность IMA5p от гибридных дрожжей 1, кодируемая отличным от Sc, IMA5-подобным аллелем

MTIIHNPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDLGAGITSKLDYIKELGVDAIWVCPFYDSPQ
EDMGYDIANYEKVWPRYGTSEDCFQMIIEESHKRGIKVIVDLVINHCSEHEWFKESRSKTN
AKRDWFFWKP PKGYEIDGTP IPPNNWRSFFGGSAAWKYDENTE EEFLLHVFPAGQPDFN WENKE
CRQAIYDSSVGVFLRHNVDGFRIDVGSMSYKVEGLPDASITDPTVPYQDGTDFVNGPRIHE
YHKEMRQMYTQIPEGKEIMTVGEVIGNEKDFKDYTSKKEEFNMMFNFKHTSVGSEPEFK
YELIPFTLKD FKLALAESFLFIEGTDCWSTIYLENHDQPRSVSFRGSDSP EWREISSKMLAT
LIISLTGTVFIYQGGELGMPNFKNRKIEQIKCVEGTGTGAIKRDYGEDSEKMKKFEALAL
ISRHDGRTFPFWSGEKPYAGFSKNAKFWIDINESFVEGINAEAELENDENS VFFFWKRALQVR
KEHNMLVYGDNFQFYDLNDEKLFMFTKDSGDKKMFVFNFCSDSTEFVSPDNKAS YDMFFG
NYANS DGKSYTLKPWEGRLYYSN

SEQ ID NO:17. Аминокислотная последовательность IMA5p от гибридных дрожжей 1, кодируемая Sc-IMA5-подобным аллелем

MTIIHNPKWWKEATVYQIYPASNKDSNDDGWGDLGAGITSKLDYVKELGVDAIWVCLFYDSPQ
EDMGYDIANYEKVWPRYGTNEDCFQMIIEEAHKRGIKVIVDLVINHCSEHEWFKESKSSKTN
PKRDWFFWRPPKGFDEKGNPIPPNNWRSFFGGSAAWRYDEKTGEFFLHVFPAGQPDFN WENEE
CRKAIYDSSVGYWLRHNVDGFRIDVGSMSYKVEGLPDAPITDPTVPYQKGTFFINGSRHE
YHKEMRKYMLSQIPEGKEIMTVGEVGVNEEDFRDYTSAKEGELNMMFNFKHTSVGSEPECK
YELIPFTLKD FKLALAESFLFIENTDCWSTIYLENHDQPRSVSFRGSDSP KWRAISSKMLAT
LIISLTGTVFIYQGGELGMSNFKNRIEQIKCVEGTGTGAAIKRDYGEDSEKMKKFEALAL
ISRHDGRTFPFWSAEP SAGFSKDAKPRIDMNESFRDGINAEAELEKDKNS VFFFWKALQVR
KEHKDILVYGHNFQFIDLNDKLFMFTKDTDNKMFVFNFCSDDTDFVSPDNEASYTMFFG
NYANSNGDSRTLQPWEGRLYLLK

SEQ ID NO:18. Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 1, кодируемая отличным от Sc аллелем

MKNILSLVGRKENTPEDVTANLADTSSTTVMQAKDLVIEDFEERKKNDAFELNHLETTNAT
QLSDSDEDKENVIRVAEATDDANEANNEKSMTLRQALRKYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLSALYALPVFQRKFGTMNAEGSYEITSQWQIGLNMVLCGEMIGLQITTYMVEFMGNRYT
MITALSLLTAYIFILYCKSLAMIAVGQILSAMPWGCQSLAVTYASEVCPALALRYMYSYS
NICWLPFQIFASGIMKNSQENLNSDLGYKLPALQWIWPAPLIIGIFPAPESPWWLVRKNK
IVEAKKSLNRLSGTVTEKEIQVDITLQIEMTIEKERLRASKSGSFFSCFKGVDGRRTRLA
CLTWVAQNSSGAVLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSLIQYCLGLAGTLGSWVLSGRVGRWTI
LTYGLSFQMVCLFIIGMGFASGSSASNAAGLLALSFFYNAGIGAVVYCVIAEIPSAELR
TKTIVLARICYNLMAVFNAILTPYMLNVSDWNWGAKTGLYWGFTALT LAWVIDLPETTGR
TFSEINELFSQGV P ARKFASTVVD PFGKRGLQNRQVDNIIIDRFSSASQQAL

SEQ ID NO:19. Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 1, кодируемая Sc аллелем

MKNIISLVSKKKAASKNEDKNISESSRDIVNQEVFNTENFEEGRKDSAFELDHLEFTINSA
QLGSDSDNENVINETNTTDDANEANSEEEKSMTLKQALLIYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLNLYALPVFQRFKFTLNNGEGSYEITSQWQIGLNMVCQCGEIIIGLQITPYMVEFMGNRYT
MITALGLLTAYVFILYYCKSLAMIAVGQVLSAMPWGCFOGLTVTYASEVCPALALRYMTSYS
NICWLFQQIFASGIMKNSQENLGNSDLGYKLPFALQWIWPAPLMIGIFFAPESPWWLVRKDR
VAEARKSLSRILSGKGAEKDIQIDLTLKQIELTIEKERLLASKSGSFLDCFKGVNGRRRLA
CLTWVAQNTSGACLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSVIQYCLGLAGTLCSSWISGRVGRWTI
LTYGLAFQMVCLFIIGGMGFGSGSGASNGAGLLALLSFFYNAGIGAVVYCIIVTEIPSAELR
TKTIVLARICYNIMAVINAILTPYMLNVSDWNWGAKTGLYWGGFTAVTLAWVIIIDLPETSGR
TFSEINELFNQGVPARKFASVVDVDFGKGTQHDSLDDESISQSSSIKQRELNAADKC

SEQ ID NO:20. Аминокислотная последовательность AGT1 от гибридных дрожжей 1, кодируемая Sc аллелем

MKNIISLVSKKKAASKNEDKNISESSRDIVNQEVFNTENFEEGRKDSAFELDHLEFTINSA
QLGSDSDNENVINETNTTDDANEANSEEEKSMTLKQALLIYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLNLYALPVFQRFKFTLNNGEGSYEITSQWQIGLNMVCQCGEIIIGLQITPYMVEFMGNRYT
MITALGLLTAYVFILYYCKSLAMIAVGQVLSAMPWGCFOGLTVTYASEVCPALALRYMTSYS
NICWLFQQIFASGIMKNSQENLGNSDLGYKLPFALQWIWPAPLMIGIFFAPESPWWLVRKDR
VAEARKSLSRILSGKGAEKDIQIDLTLKQIELTIEKERLLASKSGSFFDCFKGVNGRRRLA
CLTWVAQNTSGACLLGYSAFFERAGMATDKAFTFSVIQYCLGLAGTLCSSWISGRVGRWTI
LTYGLAFQMVCLFIIGGMGFGSGSGASNGAGLLALLSFFYNAGIGAVVYCIIVTEIPSAELR
TKTIVLARICYNIMAVINAILTPYMLNVSDWNWGAKTGLYWGGFTAVTLAWVIIIDLPETSGR
TFSEINELFNQGVPARKFASVVDVDFGKGTQHDSLDDESISQSSSIKQRELNAADKC

SEQ ID NO:21. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным аллелем IMA1 от гибридных дрожжей 4

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSKLEYIKELGVDAIWIISPF
YDSPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSSEHEWFKESR
SSKTNPKRDWFFWRPCKGYDAEGKPIPPNNWKSYPGGSAWIFDEKTOEFYLRFCSTQPDLN
WENEDCRKAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGSLSYKVVGLPDAVVDKNSWTQSSDPYTLNG
PRIHEFHQEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGT
SPLFRYNLVPFELKDWKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHDQPRISITRFGDDSPKNRVISG
KLLSVLLSALTGTLYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFL
EAIALISRDHARTPMQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWK
EALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLNNKLFSTKKNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSS
FKLEFGNYPKKEVDASSRTLKPWEGRIYISE.

SEQ ID NO:22. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным аллелем IMA1 от гибридных дрожжей 4

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSKLEYIKELGVDAIWIISPF
YDSPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSSEHEWFKESR
SSKTNPKRDWFFWRPCKGYDAEGKPIPPNNWKSYPGGSAWIFDEKTOEFYLRFCSTQPDLN
WENEDCRKAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGSLSYKVVGLPDAVVDKNSWTQSSDPYTLNG
PRIHEFHQEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGT
SPLFRYNLVPFELKDWKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHDQPRISITRFGDDSPKNRVISG
KLLSVLLSALTGTLYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFL
EAIALISRDHARTPMQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWK
EALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLNNKLFSTKKNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSS
FKLEFGNYPKKEVDASSRTLKPWEGRIYISE.

SEQ ID NO:23. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным аллелем IMA1 от гибридных дрожжей 7

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWGDMKGISSKLEYIKELGVDAIWIISPF
YDSPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSSEHEWFKESR
SSKTNPKRDWFFWRPCKGYDAEGKPIPPNNWKSYPGGSAWIFDEKTOEFYLRFCSTQPDLN
WENEDCRKAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGSLSYKVVGLPDAVVDKNSWTQSSDPYTLNG
PRIHEFHQEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKKLYTSASRHELSELFNFSHTDVGT
SPLFRYNLVPFELKDWKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHDQPRISITRFGDDSPKNRVISG
KLLSVLLSALTGTLYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFL
EAIALISRDHARTPMQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWK
EALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLNNKLFSTKKNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSS
FKLEFGNYPKKEVDASSRTLKPWEGRIYISE.

SEQ ID NO:24. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным аллелем IMA1 от гибридных дрожжей 7

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWMKGISSKLEYIKELGVDAIWISPF
YDSPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSEHEWFKESR
SSKTNPKRDWFFWRPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPGGSAWTFDEKTOEFYLRLLFCSTQPDLN
WENEDCRKAIYESAVGYWLDHGVGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNG
PRIHEFHQEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGT
SPLFRYNLVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHQPRSI TRFGDDSPKNRVISG
KLLSVLLSALTGTLYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFL
EAIALISRDHARTPMQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWK
EALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLNDKLLFSFTKKYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSS
FKLEFGNYPKKEVDASRRTLKPWEGRYISE.

SEQ ID NO:25. Аминокислотная последовательность IMA1p, кодируемая длинным аллелем IMA1 от гибридных дрожжей 7

MTISSAHPETEPKWWKEATFYQIYPASFKDSNDDGWMKGISSKLEYIKELGVDAIWISPF
YDSPQDDMGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSEHEWFKESR
SSKTNPKRDWFFWRPKGYDAEGKPIPPNNWKSYPGGSAWTFDEKTOEFYLRLLFCSTQPDLN
WENEDCRKAIYESAVGYWLDHGVGFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNG
PRIHEFHQEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGT
SPLFRYNLVPFELKDWKIALAELFRYINGTDCWSTIYLENHQPRSI TRFGDDSPKNRVISG
KLLSVLLSALTGTLYVYQGQELGQINFKNWPVEKYEDVEIRNNYNAIKEEHGENSEEMKKFL
EAIALISRDHARTPMQWSREEPNAGFSGPSAKPWFYLNDSFREGINVEDEIKDPNSVLNFWK
EALKFRKAHKDITVYGYDFEFIDLNDKLLFSFTKKYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDSS
FKLEFGNYPKKEVDASRRTLKPWEGRYISE.

SEQ ID NO:26. Аминокислотная последовательность укороченной формы AGT1, кодируемая Sc аллелем от гибридных дрожжей 4

MKNIIISLVSKKAASKNEDKNISESSRDIVNQEVFNTENFEEGKKDSAFELDHLETTNSA
QLGSDSDENMINEMNATDEANEANSEKSMTLKQALLKYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLNALYALPVFQRKFGTLNGEGSYEITSQWQI GLNMCVQCGEMIGLQITTYMVEFMGNRYT
MITALGLLTAYIFILYCKSLAMIAVGQVLSAMPWGCFOGLTVTYASEVCPALALRYMTSYS
NICWLFQGI FASGIMKNSQENLGNSDLDYKLPFALQWIWPAPLMIGIFFAPESPWWLVRKDR
VAEARKSLSRILSGKGAEKDIQVDLTLKQIELTIEKERLLASKSGSFFDCFKGVNRRRLA
CLAWVAQNTSGACLLGYSTYFF.

SEQ ID NO:27. Аминокислотная последовательность AGT1, кодируемая отличным от Sc аллелем от гибридных дрожжей 4

MKNILSLVGRKENTPEDVTANLADTSSTVMQAKDLVIEDFEERKKNDAFELNHLELTNAT
QLSDSDKENVIRVAEATDDANEANNEEKSMTLRQALRKYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLSALYALPVFQRKFGTMNAEGSYEITSQWQI GLNMCVLCGEMIGLQITTYMVEFMGNRYT
MITALSLLTAYIFILYCKSLAMIAVGQILSAMPWGCFOQLAVTYASEVCPALALRYMTSYS
NICWLFQGI FASGIMKNSQENLGNSDLGYKLPFALQWIWPAPLIIGIFFAPESPWWLVRKKN
IVEAKKSLNRILSGTVTEKEIQVDITLQIEMTIEKERLRASKSGSFFCFKGVDRRRLA
CLTWAQNSSGAVLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSLIQYCLGLAGTGLGSWVISGRVGRWTI
LTYGLSFQMVCLFIIGMGFASGSSASNAAGLLLALSFFYNAGIGAVVYCIVAEIPSAELR
TKTIVLARICYNLMAVFNAILTPLYMLNVDWNWGAKTGLYWGDFALTALWVIIDLPETTGR
TFSEINELFSQGVPAKFASTVVDPPGKRGLQNRQVDNIIDRFSSASQQAL.

SEQ ID NO:28. Аминокислотная последовательность AGT1, кодируемая отличным от Sc аллелем от гибридных дрожжей 4

MKNILSLVGRKENTPEDVTANLADTSSTVMQAKDLVIEDFEERKKNDAFELNHLELTNAT
QLSDSDKENVIRVAEATDDANEANNEEKSMTLRQALRKYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLSALYALPVFQRKFGTMNAEGSYEITSQWQI GLNMCVLCGEMIGLQITTYMVEFMGNRYT
MITALSLLTAYIFILYCKSLAMIAVGQILSAMPWGCFOQLAVTYASEVCPALALRYMTSYS
NICWLFQGI FASGIMKNSQENLGNSDLGYKLPFALQWIWPAPLIIGIFFAPESPWWLVRKKN
IVEAKKSLNRILSGTVTEKEIQVDITLQIEMTIEKERLRASKSGSFFCFKGVDRRRLA
CLTWAQNSSGAVLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSLIQYCLGLAGTGLGSWVISGRVGRWTI
LTYGLSFQMVCLFIIGMGFASGSSASNAAGLLLALSFFYNAGIGAVVYCIVAEIPSAELR
TKTIVLARICYNLMAVFNAILTPLYMLNVDWNWGAKTGLYWGDFALTALWVIIDLPETTGR
TFSEINELFSQGVPAKFASTVVDPPGKRGLQNRQVDNIIDRFSSASQQAL.

SEQ ID NO:29. Аминокислотная последовательность укороченной формы AGT1, кодируемая Sc аллелем от гибридных дрожжей 7

MKNIISLVSKKKAASKNEDKNISESSRDIVNQEVFNTENFEEGKKDSAFELDHLEFTTNSA
QLGDSDEDNENMINEMNATDEANEANSEKSMTLKQALLKYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLNLYALPVFQRKFGTLNGEYSYEITSQWQIGLNMVQCCEMIGLQITTYMVEFMGNRYT
MITALGLLTAYIFILYCKSLAMIAVGQVLSAMPWGCFOGLTQVYASEVCPALALRYMYSYS
NICWLFQGI FASGIMKNSQENLGNDDLKLPFALQWIWPAPLMIGIFFAPESPWWLVRKDR
VAEARKSLSRILSGKGAEKDIQVDLTLKQIELTIEKERLLASKSGSFFDCFKGVNRRRLA
CLAWVAQNTSGACLLGYSTYFF.

SEQ ID NO:30. Аминокислотная последовательность AGT1, кодируемая Sc аллелем от гибридных дрожжей 7

MKNIISLVSKKKAASKNEDKNISESSRDIVNQEVFNTENFEEGRKDSAFELDHLEFTINS
QLGDSDEDNENVINETNTTDDANEANSEKSMTLKQALLIYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLNLYALPVFQRKFGTLNGEYSYEITSQWQIGLNMVQCCEIIGLQITTYMVEFMGNRYT
MITALGLLTAYVFIILYCKSLAMIAVGQVLSAMPWGCFOGLTQVYASEVCPALALRYMYSYS
NICWLFQGI FASGIMKNSQENLGNDDLGYKLPFALQWIWPAPLMIGIFFAPESPWWLVRKDR
VAEARKSLSRILSGKGAEKDIQIDLTLKQIELTIEKERLLASKSGSFFDCFKGVNRRRLA
CLTWAQNTSGACLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSVIQYCLGLAGTLCSWVISGRVGRWTI
LTYGLAQMVCLFIIGMGFGSGSGASNGAGLLALLSFFYNAGIGAVVYICVTEIPSAELR
TKTIVLARICYNIMAVINAILTPLYMLNVDWNWGAKTGLYWGFTAVALAWVIDLPEPESGR
TFSEINELFNQGVPAKFASTVVDPPFGKGTQHSDLDESISQSSSIKQRELNAADKC.

SEQ ID NO:31. Аминокислотная последовательность AGT1, кодируемая отличным от Sc аллелем от гибридных дрожжей 7

MKNIISLVGRKENTPEDVTANLADTSSTVMQAKDLVIEDFEERKKNDAFELNHLELTNAT
QLSDSDEDKENVIRVAEATDDANEANNEEKSMTLRQALRKYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLSALYALPVFQRKFGTMNAEGSYEITSQWQIGLNMVLCGEMIGLQITTYMVEFMGNRYT
MITALSLLTAYIFILYCKSLAMIAVGQILSAMPWGCFOGLAVTYASEVCPALALRYMYSYS
NICWLFQGI FASGIMKNSQENLGNDDLGYKLPFALQWIWPAPLIIGIFFAPESPWWLVRKDR
IVEAKKSLNRILSGTVTEKEIQVDITLQIEMTIEKERLRASKSGSFFSCFKGVDGRRLA
CLTWAQNTSGAVLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSLIQYCLGLAGTLCSWVISGRVGRWTI
LTYGLSFQMVCLFIIGMGFASGSSASNAAGLLALLSFFYNAGIGAVVYICVAEIPSAELR
TKTIVLARICYNLMVAFNAILTPLYMLNVDWNWGAKTGLYWGFTAVALAWVIDLPEPESGR
TFSEINELFSQGVPAKFASTVVDPPFGKRGQNRQVDNIIDRFSSASQQAL.

SEQ ID NO:32. Аминокислотная последовательность AGT1, кодируемая отличным от Sc аллелем от гибридных дрожжей 7

MKNIISLVGRKENTPEDVTANLADTSSTVMQAKDLVIEDFEERKKNDAFELNHLELTNAT
QLSDSDEDKENVIRVAEATDDANEANNEEKSMTLRQALRKYPKAALWSILVSTTLVMEGYDT
ALLSALYALPVFQRKFGTMNAEGSYEITSQWQIGLNMVLCGEMIGLQITTYMVEFMGNRYT
MITALSLLTAYIFILYCKSLAMIAVGQILSAMPWGCFOGLAVTYASEVCPALALRYMYSYS
NICWLFQGI FASGIMKNSQENLGNDDLGYKLPFALQWIWPAPLIIGIFFAPESPWWLVRKDR
IVEAKKSLNRILSGTVTEKEIQVDITLQIEMTIEKERLRASKSGSFFSCFKGVDGRRLA
CLTWAQNTSGAVLLGYSTYFFERAGMATDKAFTFSLIQYCLGLAGTLCSWVISGRVGRWTI
LTYGLSFQMVCLFIIGMGFASGSSASNAAGLLALLSFFYNAGIGAVVYICVAEIPSAELR
TKTIVLARICYNLMVAFNAILTPLYMLNVDWNWGAKTGLYWGFTAVALAWVIDLPEPESGR
TFGEINELFSQGVPAKFASTVVDPPFGKRGQNRQVDNIIDRFSSASQQAL.

SEQ ID NO:33. Аминокислотная последовательность короткой формы IMA1 от гибридных дрожжей 7

MGYDIANYEKVWPTYGTNEDCFALIEKTHKLGKMFITDLVINHCSSEHEWFKESRSSKTNPK
RDWFFWRPPKGYDAEGKPIPPNNWKS YFGGSAWTFDEKTQEFYLR LFCSTQPDNLWENEDCR
KAIYESAVGYWLDHGVDFRIDVGSLSYKVVGLPDAPVVDKNSTWQSSDPYTLNGPRIHEFH
QEMNQFIRNRVKDGREIMTVGEMQHASDETKRLYTSASRHELSELFNFSHTDVGTSPLFRYN
LVPFELKDWKIALAELFRFINGTDCWSTIYLENHQPRSITRFGDSDPKNRVISGKLLSVLL
SALTGTLVYVYQQLGQINFKNVSEKYEYDVEIRNNYRLIKEECGENSEEMKFLLEGIALVS
RDHARTPMPWTPNEPNAGSGPNTKPFYLNESFRQGINVEEQQNSDSVLAFWKKALEFRK
NHKDIIVYGFDFKFIIDLNKKLFSFTKRYNNKTLFAALNFSSDATDFKIPNDGSSFKLEFGN
YPKNEVDASSRTLKPWEGRHINE.

SEQ ID NO:34. Аминокислотная последовательность IMA5 от гибридных дрожжей 1

MTIIHNPKWWEATVYQIYPASNKDSNNDGWGDLGAGITSKLDYVKELGVDAIWVCLFYDSPQ
 EDMGYDIANYEKVWPRYGTNEDCFQMIIEEAHKRGIKVIIVDLVINHCSEEHWFKESKSSKTN
 PKRDWFFWRPPKGFDEKGNPIPPNNWRSFFGGSAWRYDEKTGEFFLHVFAFGQPDFNWEENE
 CRKAIYDSSVGYWLRHNVDGFRIDVGSMSYKVEGLPDAPITDPTVYQKGTFFINGPRIHE
 YHKEMRKYMLSQIPEGKEIMTVGEVGVGNEEDFRDYTSAKEGELNMMFNFKHTSVGESPECK
 YELIPFTLKDFKLALAESEFLFIENTDCWSTIYLENHDQPRSVSRFGSDSPKWRAISSKMLAT
 LIISLTGTVFYIYQGEQELGMSNFKNRRIEQIKCVEGTGTAAIKRDIYGEDSEKMKKFFFEALAL
 ISRDHGRTPPFWSADEPSAGFSKDAKPWIDMNESFRDGINAEAEELKDKNSVFFFWKALQVR
 KEHKDILVYGHNFQFIDLNDKLFMFTKDTDNKMFVAVNFSSDNTDFSVDPNEASYTMFFG
 NYANSNGDSRTLQPEWGRLYLLK

SEQ ID NO:35. Аминокислотная последовательность гибридного Sc аллеля IMA5 гибрида 7

MTIIHNPKWWEATVYQIYPASNKDSNNDGWGDLGAGITSKLDYVKELGVDAIWVCLFYDSPQ
 EDMGYDIANYEKVWPRYGTNEDCFQMIIEEAHKRGIKVIIVDLVINHCSEEHWFKESKSSKTN
 PKRDWFFWRPPKGFDEKGNPIPPNNWRSFFGGSAWRYDEKTGEFFLHVFAFGQPDFNWEENEK
 CRKAIYDSSVGYWLRHNVDGFRIDVGSMSYKVEGLPDAPITDPTVYQKGTFFINGPRIHE
 YHKEMRKYMLSQIPEGKEIMTVGEVGVGNEEDFRDYTSAKEGELNMMFNFKHTSVGESPECK
 YELIPFTLKDFKLALAESEFLFIENTDCWSTIYLENHDQPRSVSRFGSDSPKWRAISSKMLAT
 LIISLTGTVFYIYQGEQELGMSNFKNRRIEQIKCVEGTGTAAIKRDIYGEDSEKMKKFFFEALAL
 ISRDHGRTPPFWSADEPSAGFSKDAKPWIDMNESFRDGINAEAEELKDKNSVFFFWKALQVR
 KEHKDILVYGHNFQFIDLNDKLFMFTKDTDNKMFVAVNFSSDNTDFSVDPNEASYTMFFG
 NYANSNGDSRTLQPEWGRLYLLK

SEQ ID NO:36. Аминокислотная последовательность отличного от Sc аллеля IMA5 гибрида 7; первые 6 аминокислот геномной последовательности отсутствуют

PKWWEATVYQIYPASFKDSNNDGWGDLGAGITSKLDYIKELGVDAIWVCPFYDSPQEDMGYD
 IANYEKVWPRYGTSEDCFQMIIEESHKRGIKVIIVDLVINHCSEEHWFKESRSKTNNAKRDWF
 FWKPPKGYEIDGTPIPPNNWRSFFGGSAWKYDENTEFFLHVFAFGQPDFNWEENEKRAIY
 DSSVGFWRHNVDGFRIDVGSMSYKVEGLPDASITDPTVYQDGTDFVNGPRIHEYHKEMR
 QYMYTQIPEGKEIMTVGEVGVGNEEDFRDYTSSKEEENMMFNFKHTSVGESPEFKYELIPF
 TLKDFKLALAESEFLFIEGTDCWSTIYLENHDQPRSVSRFGSDSPWREISSKMLATLIISLT
 GTVFYIYQGEQELGMPNFKNRKIEQIKCVEGTGTAAIKRDIYGEDSEKMKKFFFEALALISRDHG
 RTPFPWSGKPYAGFSKNAKPWIDINESFVEGINAEAEELNDENSVFFFWKALQVRKEHKNM
 LVYGDNFQFYDLNDEKLFMFTKDSGDKMFVAVNFCSNSTEFSVPDNKASYDMFFGNYANS
 GKSYYTLKPWEGRLYYSN

SEQ ID NO:37. Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая Sc аллелем гибридных дрожжей 7 (неполная последовательность).

NSTERYNLSPEDEDFEAPTEEMQTLRHVGGKIPMRCWLIATVLSERFSYYGLSAPFQN
 YMEYGNDSPKGVLSLNSQGATGLSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWKGKNTICCGTAIYIA
 GIFILFITSIPSVGNRDSAIGGFIAAIIILIGIATGMIKANLSVLIADQLPKRKPSSIKVLKSG
 ERVIVDSNITLQNVFMFFYFMINVGSLSLMTTELEYHKGFWAAAYLLPFCFFWIAVVTLIFG
 KKQYIQRPIGDKVIAKSFKVCWILTCKNFDFNAAKPSVHPEKYPWNDKFVDEIKRALAACK
 VFIFYPIYWTQYGTMISSFITQASMELHGI PNDFLQAFDSIALIIFIFIPEKFIYPIRIRY
 TPLKPI TKIFFGFMFGSFAMTAAVLSQFVYKAGPWYNEPLGHNTPNHVHVCWQIPAYVLIS
 FSEIFASITGLEAYSKAPASMKSFIMSIFLLTNAFGSAIGCALSPVTVDPKFTWLTGLAV
 ACFISGCLFWLCFRKYNDTEEMNAMYEEDEFDLNPISAPKANDIEILEPMSLRSTTKY

SEQ ID NO:38. Белковая последовательность PTR2, кодируемая отличным от Sc аллелем гибридных дрожжей 7

MLNHLSSQSDDIQDEKQGFVIEEENQTVTLKDSYVSDAANSTEHYNLSPSLEEDEFEA
 PTDEELRSLRHVGGKIPMRCWLIATVLSERFSYYGLSAPFQNYMEYGPKDTPKGVLNSLNSQ
 GATGLSYFFQFWCYVTPVFGGYVADTFWKGKNTICCGTAIYIAGIFILLITSIIPSVGNRDSA
 LGGFIASIIILIGIATGMIKANLSVLIADQLPKRKPSSIKVLKSGSERVIVDSNITLQNVFMFFY
 FMINVGSLSLMTTELEYHKGFWAAAYLLPFCFFWVAVVTLVFGKQYIQRPIGDKVIAKSF
 VCWILTCKNFDFNAAKPSVHPEKEYPWNDKFVDEIKRALAACKVVFYPIYWTQYGTMISSF
 ITQAGMELHGI PNDFLQAFDSIALIIFIFIPEKFIYPIRIRYTPPKPITKIFFGFMFGSLA
 MTAAVLSQFVYKAGPWYSAPLGHNTPNHVHVCWQIPAYVLISFSEIFASITGLEAYSKAP
 ASMKSFIMSIFLLTNAFGSAIGCALSPVTVDPKFTWLTGLAVACFISGCLFWLCFRKYNDT
 EEMNAMYEEDEFDLNPISQPKGNDIEILEPMSLSTTKY

SEQ ID NO:39. Аминокислотная последовательность DAL5, кодируемая Sc аллелем гибридных дрожжей 7

MSADASTNSNASLDEKNLNIITSEAEIKNEDVTAEPVLSTVLSPNGKIVYISDKVDEAMKLAE
EAKEIEVTPPEEDRKLKRWKIDYCMFPLMCILYAVQFMDKISTSSAAVMGLRTDLKMHGDQYSW
VTSAFYFGYLFMNLGPVQFIFORTSHMSKMLAVFIVIWGMMLLALHAAPTVKYPSFIVLRLVLL
GCAESVVTPCFTIITAQYWKTEEQFTRVSIWFGMNLGSLILINAIYGVYIHQDSYAIKQWR
TLFVITGVITIFIGILIFLWIPDDPSKARFLSKREKLMVVQRIRSNQQGFGNHEIKKYQIIE
ALKDVRTWLYFLFTVSSNIPNGGISSFMSILLNSDFGYSSKETLLMGLPTGAVELVGCPLFG
ILAVYAANKKIPFWKYKLSWAIFAAVLALIASCMLGFATNSKKARLAGAYLWYISPVSFICV
LSNISANSSGYSKKWTVSSINLVAYAAANLAGPQTFIAKQAPKYHGAKVAMVVVYAVMIVLL
SILLIVNLRENKRRDKIAAERGFPEETENLEFSDLTDFENPNFRYTL.

SEQ ID NO:40. Аминокислотная последовательность DAL5, кодируемая отличным от Sc аллелем гибридных дрожжей 7

MSGGASTNSNASIDEKNLNIITSEAEIKNEDVYAEPVLSTVLSPNGKVVIISDKVDEAMKLAE
EAKEIEVTPPEEDRKLKRWKIDYCMFPLMCILYAVQFMDKISTSSAAVMGLRTDLKMHGDQYSW
VTSAFYFGYLFMNLGPVQLIFQKSKHMSKMLAIFIVWGLLLALHAVPSVKYSSFIALRVLL
GCAESVVTPCFTIITAQYWKTEEQFTRISIWFGMNLGSLILINAIYGVYIHQESYAIKQWR
ALFVITCVITIFVICALIFLWIPDDPSKARFLSKREKLMVVQRIRSNQQGFCNHEIKKYQIVE
ALKDVRTWLYFLFTVSSNIPNGGISSFMSILLNSDFGYSKDTLLMGLPTGAVELVGCPLFG
ILAVYAANKKIPFWKYKLAWAIFAAVLALIASCMLGFATSSKKARLAGAYLWYISPVSFICV
LSNISANSSGYSKKWTVSSINLAAYAAANLAGPQTFIAKQAPKYHGAKVAMVVVYAVMIVLL
SALLINMRENKRRDKIAAERGYPEETANLEFSDLTDFENPNFRYTL.

SEQ ID NO:41. Аминокислотная последовательность UBR1, кодируемая Sc аллелем гибридных дрожжей 7 (неполная последовательность)

MSVADDDLGSQGHIRRTLRSHNLPHYFRYTRGPTERADMSRALKEFIYRYLYFVISNGEN
LPTLFNAHPKQKLSNPELTVFPDSLEDAVDIDKITSQQTIPFYKIDESRIGDVHKHTGRNCG
RKFKIGEPLYRCHCEGCDDTCLVLCIHCFNPKDHNHHVCTDICTEFTSGICDCGDEEAWNSP
LHCKAEEQENDISEDPATNADIKEDVWNSVNIALVELVLAEVFDYFIDVFNQNIIEPLPTI
QKDITIKLREMTQQGKMYERAQFLNDLKYENDYMPDGTTTAKTSPSNSPEASPSLAKIDPEN
YTVIIYNDEYHNYSQATTALRQVDPNVHIDLTSRIDGEGRAMLKCSQDSSSVLGGFFAVQ
TNGLSATLTSWSEYLVHQEETCKYIILWITHCLNIPNSSFQITFRNMMGKTLCSSEYLNATECRD
MTPVVEKYFSNFKNDPYRIDLSILADGNQIPLGHHKILPESSTHLSPLINDVETPTSR
TYSNTRLQHILYFDNRYWKRRLRDKIQNVIIPTLASSNLYKPIFCQQVVEIFNHITRSVAYMD
REPQLTAIRECVVQLFTCPTNAKNI FENQSFLDIVWSIIDIFKEFCVKEGGVLIWQRVQKSN
LTKSYSISFKQGLYTVETLLSKVHPNIPLRPKEIISLLTLCKLFNGAWKIKRKEGEHVLHE
DQNFISYLEYTTISIYIIQTAEKVSEKSKSDSKLFLNAIRIISFGLNRSPTYKLIYDSH
EVIKFSVSHERVAFMNPLQTMLSFLIEKVS LKDAYEAELEDCSDFLKISDFSLRSVVLCSQID
VGFVWRNGMSVLHQASYYKNNP

SEQ ID NO:42. Аминокислотная последовательность UBR1, кодируемая отличным от Sc аллелем гибридных дрожжей 7

MSFTDNLGSLKAHIRRTLRSHNLPHYFRFTRGPTERADMSRALKEFIYRYLYFIISNDGEN
LSTLFTAHPKQKSSNQELAVFPESLEDAVDVDKITSQGTFFPYKIDESKIGDVHKHTGRNCG
RKFKIGEPLYRCHCEGCDDTCLVLCIHCFNPKDHNHHVCTDICSEFTSGICDCGDEEAWNSS
LHCKAEEQNDTSEDPSNFDSTKQKDVWNPEDICIALVELVLSEVFDYFIDVFNQNIIEPLPTI
QKDITIKLREMTQQGKMYERAQFLNDLKYENDYMPDGTTTAKTSPSNSPEASPSLAKIDPEN
YTVIIYNDEYHNYSQATTALRQVDPNVHIDLTSRIDGEGRAMLKCSQDSSSVLGGFFAVQ
TNGLSATLTSWSEYLVHQEACKYIILWITHCLNIPNPSFQITFRNMMGKSLCSEYLNATESRD
MTPVVEKYFSTKFDKDDPYRIDLSVLAEGNQIPLGHHKVLPESSSTHLSLTLINDVENLTSK
EYSNTRLQHILYFDNRYWKRRLRDKIQNVIIPTLASSSTLYKPIFCQQVVEIFNHITRSVAYMD
REPQLTAIRECVVQLFTCPTNTRNI FENQSFLDIILWSIIDIFKEFCVKEAGVLIWQRVQKSN
LTKSYSLSFKQGLYTVETLLSKVNDPNITIRPKVFISLLTLGKLFNGAWKIKRKEGEHVLHE
DQNFISYLEYTTISIYIIQTAEKVLEKSHDSLNLVNLNAIRIVSSFGLNRSPTYKLIYDSH
EIIKFSVSHERVAFMNPIQTMLSFLIEKVS LKDAYELENCPDFLKIADFSLSRVVLCQID
VGFVWRNGMSVLHQASYYKNNPELGSYSRDIHLNLQLAIIWERDDLPRVIYNILDRWELLDWF
MGEAEYQHTVYEDKISFMIQQFIAFIYQILTERQYFKTFSLLRRRMDMIKNSIMYNYMKP
LSYSKLLKSVDPDYLTDDTTEFDEALEEVSFVEPKGLADNGVFKLKAALYAKIDPLKLLNLE
NEFESSATIIKTHLAKNKDEVSKVLI PQVSTKLLDKGAMNLGEFTRNTVFAKVIYKLLQVC
LDMEDSTFLNELLHLVHGI FKDELINGKDSIPEAYLAKPICNLLLSIANAKSDIFSESIVR
KADYLLEKMIMKKPDEIFESLIASFGNQYIDNYKDKKLSQGVNLQETEKERKRRMAKKHQAR
LLAKFNQQSKFMKEHESEFDEQDNDVMDGEEKVYESEDFTCALCQDSSSTDFVVI PAYHDH
TPIFRPGNIFNPREFMAKWDGfyNDDDKQAYIDDEVLESLEKENGTRGSRKVFVSCNHHIHN

CFKRYVQKKRFSSNAFICPLCQTFNSNCTLPICPFSRANTGLSLDMFLKSELSLDILSRLFKP
 FTEDNYRTINSIFSLMVSQCQGFQVVRKHVNFTHKDVSLVLSVHWANTISMLEVASRLEKP
 HNISFFRSREQKYKTLKNLILICIMLFTFVIGKPSMEFEPYPVESDIIICNQQLFQYIVRKS
 FSPASLRETI TEALTVFCQQLDQVGLSDAEQVDKLYTEAKKLGDVNVDESILITLMSI
 TVVKTEGLESRSIYDLAYTSLKSLLPTRRCLVMVKVLELVKDSNETMVIDGFDVVEEL
 EFEGLPGFVDKALKLITDKESFVDLFKTKQAI VPSHPYLERIPEYECGIVKLI DL SKFLNTY
 VTQSKIEIKLREERSQHMKNADNRDLFKICTCGVKVHLRADRHMTKHLNKNCFKSGFALM
 PNSSEVCLHLTQPPSNI FVSAPYLN SHGEVGRNAMRRGDLTTLNLKRYEHLNRLWINNEIPG
 YISRVMGDEFRTILSNGFLFAFNREPRRRVPPTDEDEDMEEGEEGFTEENDMDVDDE
 TQQAANLFGVGAEGIGDGGVRNFFQFFENFRNTLQPGNDEDPQNPPIIQFLGPFQFDGA
 TIIRNTNQRNLDEDDSSSENDSDEREIW.

SEQ ID NO:43. Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая Sc аллелем гибридных дрожжей 1

MLNHPSQGSDDAQDEKQGFVPIEEKQAVMLKDSYVSDVANSTERYNLSFPEDEDFEA
 PTEEMQTLRHVGGKIPMRCWLIAIVELSERFSYYGLSAPPQNYMEYGPNDSPKGVLSLNSQ
 GATGLSYFFQWCYVTPVFGGYVADTFWQKYNITCCGTAIYIAGIFILFITSPVGNRDSA
 IGGFIAAIIILIGIATGMIKANLSVLIADQLPKRKPSSIKVLKSGERVIVDSNITLQNVFMFFY
 FMINVGSLSLMATTELEYHKGFWAAYLLPFCFFWIAVVTLIFGKKQYIQRPIGDKVIAKSF
 VCWILTKNKFDFNAAKPSVHPEKNYPWNDKFVDEIKRALAACKVFIFYPIYWTQYGTMISSF
 ITQAMMELHGI PNDFLQAFDSIALIIFIPIFEKFIYPIRRTYPLKPI TKIFVGFMFSGFA
 MTWAAVLQSFVYKAGPWYNEPLGHNTPNHVHVCWQIPAYVLISFSEIFASITGLEAYASKAP
 ASMKS FIMSI FLLTNAFGSAIGCALSPVTVDPKFTWLTGLAVACFISGCLFWLCFRKYNDT
 EEMNAMDYEEENEFDLNPISAPKANDIEILEPMDSLRSTTKY.

SEQ ID NO:44. Аминокислотная последовательность PTR2, кодируемая отличным от Sc аллелем гибридных дрожжей 1

MLNHLSQGSDDIQDEKQGFVPIEEKQAVMLKDSYVSDVANSTERYNLSFPEDEDFEA
 PTDEELRS LRHVGGKIPMRCWLIAIVELSERFSYYGLSAPPQNYMEYGPNDSPKGVLSLNSQ
 GATGLSYFFQWCYVTPVFGGYVADTFWQKYNITCCGTAIYIAGIFILLITSPVGNRDSA
 LGGFIASIIILIGIATGMIKANLSVLIADQLPKRKPSSIKVLKSGERVIVDSNITLQNVFMFFY
 FMINVGSLSLMATTELEYHKGFWAAYLLPFCFFWIAVVTLIFGKKQYIQRPIGDKVIAKSF
 VCWILTKNKFDFNAAKPSVHPEKEYPWNDKFVDEIKRALAACKVFIFYPIYWTQYGTMISSF
 ITQAGMELHGI PNDFLQAFDSIALIIFIPIFEKFIYPIRRTYPLKPI TKIFVGFMFGLA
 MTWAAVLQSFVYKAGPWYSAPLGHNTPNHVHVCWQIPAYVLISFSEIFASITGLEAYASKAP
 ASMKS FIMSI FLLTNAFGSAIGCALSPVTVDPKFTWLTGLAVACFISGCLFWFCFRKYNDT
 EEMNAMDYEEDEFDLNPISQPKGNDIEILEPMSGLKSTTKY.

SEQ ID NO:45. Частичная аминокислотная последовательность UBR1, кодируемая Sc аллелем гибридных дрожжей 1

MSVADDLGLSQGHIRRTLRSIHNLPHYFRYTRGPTERADMSRALKEFIYRYLYFVISNNGEN
 LPTLFNAHPKQKLSNPELTVFPDSLEDAVDIDKITSQQTI PFYKIDESRIGDVHKKHTGRNCG
 RKFKIGEPLYRCHCEGDDTCVLCIHC FNPKDHNHVVCTDICTEFTSGICDCGDEEAWNSP
 LHCKAEEQENDISED PATNADIKEEDVWNSVNIALVELVLAEVFDYFIDVFNQNI EPLPTI
 QKDITIKLREMTQQGMYERAQFLNDLKYENDYMFDTTAKTSPSNSPEASPSLAKIDPEN
 YTVIYNDYHNYSQATTALRQGVDPNVHIDLTLSTRIDGEGRAMLKCSQDL.

Пункты.

Помимо всего прочего, настоящее изобретение может быть определено следующими пунктами.

1. Дрожжевая клетка, имеющая по меньшей мере одну из следующих характеристик:
 - II) способна использовать панозу в качестве единственного источника углерода;
 - III) способна использовать один или несколько дипептидов в качестве единственного источника азота.
2. Дрожжевая клетка по п. 1, имеющая обе из характеристик II) и III).
3. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет следующую характеристику:
 - I) способна использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода.
4. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем указанная дрожжевая клетка способна использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода при наличии указанной изомальтозы в концентрации, варьирующей в диапазоне от 1 до 5 г/л, таком как диапазон от 1 до 3 г/л, например 2 г/л.
5. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем указанная дрожжевая клетка способна использовать панозу в качестве единственного источника углерода при наличии указанной панозы в концентрации, варьирующей в диапазоне от 1 до 5 г/л, таком как диапазон от 1 до 3 г/л, например 2 г/л.
6. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем указанная дрожжевая клетка спо-

собна удалять по меньшей мере 45% пазозы, присутствующей в сусле.

7. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем указанная дрожжевая клетка способна удалять по меньшей мере 50% пазозы, присутствующей в сусле после инкубации в течение 5 дней при температуре 16°C.

8. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

III) способна использовать один или несколько дипептидов в качестве единственного источника азота.

9. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем один или несколько указанных дипептидов выбраны из группы, состоящей из Met-Tyr, Leu-Tyr, Val-Met, Phe-Tyr, Ile-Leu и Ile-Asn.

10. Дрожжевая клетка по любому из пп.1-8, причем один или несколько из указанных дипептидов являются дипептидами с формулой Ala-Хаа, где Хаа обозначает любую аминокислоту.

11. Дрожжевая клетка по п.10, причем Хаа представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из Glu, Gly, His и Thr.

12. Дрожжевая клетка по любому из пп.1-8, причем один или несколько из указанных дипептидов выбраны из группы, состоящей из Gly-Arg, Ile-Asn, Lys-Tyr, Met-Lys, Val-Ala, Val-Asn, Val-Gly, Val-Gln, Val-Met и Val-Ser.

13. Дрожжевая клетка по любому из пп.1-8, причем один или несколько из указанных дипептидов являются дипептидами с формулой Val-Хаа, где Хаа обозначает любую аминокислоту.

14. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, способна использовать аллантаин в качестве единственного источника азота.

15. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

IV) способна использовать один или несколько трипептидов в качестве единственного источника азота.

16. Дрожжевая клетка по п.15, причем один из указанных трипептидов представляет собой Gly-Gly-Gly.

17. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

V) способна снижать уровень одной или нескольких аминокислот до не более 10% от начальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

18. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка способна уменьшать уровень по меньшей мере от 12, как, например, по меньшей мере от 13, например по меньшей мере от 14 различных аминокислот до менее 10% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

19. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка способна снижать общий уровень одной или нескольких аминокислот до менее 30%, как, например, менее 25% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

20. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка способна уменьшать уровень аминокислот Met, Val, Ile, Leu и Phe до менее 10%, предпочтительно до менее 5%, еще более предпочтительно до не более 2% от изначальной концентрации после инкубации в течение 5 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

21. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка способна уменьшать уровень аминокислот Met, Val, Ile, Leu и/или Phe до не более 400 мг/л, как, например, не более 100 мг/л, как, например, не более 50 мг/л, например до не более 10 мг/л после инкубации в течение 6 дней в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

22. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

VI) способна вырабатывать по меньшей мере 4,7 промилле этанола на ° Plato при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Plato и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам.

23. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

VII) способна сбраживать сахар с действительной степенью сбраживания по меньшей мере 68, как, например, по меньшей мере 70 при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Plato и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам.

24. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет характеристику VII, причем характеристика VII заключается в том, что дрожжевая клетка способна сбражи-

вать сахар с RDF, которая по меньшей мере на 1 выше RDF одного из ее родительских штаммов.

25. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

VIII) способна использовать мелибиозу в качестве единственного источника углерода.

26. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

X) способна оседать так, чтобы не более 12 млн, как, например, не более 10 млн клеток/мл, находилось в суспензии при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании в течение 4 дней.

27. Дрожжевая клетка по п.26, причем количество клеток в суспензии на 1 мл составляет не более 80%, как, например, не более 70%, например не более 60%, например не более 50%, например не более 40% от исходного количества клеток на 1 мл через 5 дней инкубации в обеспечивающих рост указанных дрожжевых клеток условиях.

28. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

IX) способна использовать один или несколько дисахаридов и/или трисахаридов в дополнение к изомальтозе, панозе и/или мелибиозе.

29. Дрожжевая клетка по п.28, причем дисахарид выбран из группы, состоящей из койбиозы, нигерозы, сахарозы, туранозы, лейкозы и палатинозы.

30. Дрожжевая клетка по п.28, причем дисахарид представляет собой койбиозу.

31. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем указанная дрожжевая клетка способна использовать койбиозу в качестве единственного источника углерода при наличии указанной койбиозы в концентрации, варьирующей в диапазоне от 1 до 5 г/л, таком как диапазон от 1 до 3 г/л, например 2 г/л.

32. Дрожжевая клетка по п.28, причем дисахарид представляет собой мальтулозу.

33. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем указанная дрожжевая клетка способна использовать мальтулозу в качестве единственного источника углерода при наличии указанной мальтулозы в концентрации, варьирующей в диапазоне от 1 до 5 г/л, таком как диапазон от 1 до 3 г/л, например 2 г/л.

34. Дрожжевая клетка по п.28, причем трисахарид выбран из группы, состоящей из мальтотриозы и изомальтотриозы.

35. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка способна использовать мальтотриозу в качестве единственного источника углерода при наличии указанной мальтотриозы в концентрации, варьирующей в диапазоне от 1 до 5 г/л, таком как диапазон от 1 до 3 г/л, например 2 г/л.

36. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет следующую характеристику:

XI) способна сбрасывать сусло со временем главного брожения не более 4 дней, например не более 3 дней.

37. Дрожжевые клетки по п.36, причем указанное время главного брожения определяется после подачи суслу с содержанием сахара в диапазоне от 10 до 20° Плато с диапазоном 10-20 млн жизнеспособных клеток/мл.

38. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

I) содержащий ген, кодирующий DAL5.

39. Дрожжевая клетка, имеющая генотип:

I) содержащий ген, кодирующий DAL5.

40. Дрожжевая клетка по любому из пп.38 и 39, причем генотип I является таким, что указанная дрожжевая клетка содержит по меньшей мере один аллельный ген, кодирующий DAL5, причем аллельный ген, кодирующий DAL5, кодирует DAL5, выбранный из группы, состоящей из DAL5 с SEQ ID NO:6, DAL5 с SEQ ID NO:39, DAL5 с SEQ ID NO:40 и их функциональных гомологов по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательностей с любым из вышеупомянутых.

41. Дрожжевая клетка по любому из пп.38-40, причем генотип I характеризуется тем, что указанная дрожжевая клетка содержит по меньшей мере один аллельный ген, кодирующий DAL5 с SEQ ID NO:6 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательностей с ним.

42. Дрожжевая клетка по любому из пп.38-41, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику III, такую как характеристика III по любому из пп.8-14.

43. Дрожжевая клетка по любому из пп.38-42, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего,

имеет характеристику IV, такую как характеристика IV по любому из пп.15 и 16.

44. Дрожжевая клетка по любому из пп.38-43, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику V, такую как характеристика V по любому из пп.17-21.

45. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

II) содержащий по меньшей мере 2 аллельных гена, кодирующих PTR2.

46. Дрожжевая клетка, имеющая генотип:

II) содержащий по меньшей мере 2 аллельных гена, кодирующих PTR2.

47. Дрожжевая клетка по любому из пп.45 и 46, причем указанный PTR2 может быть выбран из группы, состоящей из PTR2 с SEQ ID NO:7, PTR2 с SEQ ID:8, PTR2 с SEQ ID NO:9 и функциональных гомологов каждого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

48. Дрожжевая клетка по любому из пп.45-47, причем генотип II относится к указанной дрожжевой клетке, содержащей по меньшей мере два аллельных гена, кодирующих PTR2, независимо выбранных из группы, состоящей из генов, кодирующих PTR2 с SEQ ID NO:7, PTR2 с SEQ ID:8, PTR2 с SEQ ID NO:9, PTR2, содержащую SEQ ID NO:37, PTR2 с SEQ ID NO:38, PTR2 с SEQ ID NO:43, PTR2 с SEQ ID NO:44 и функциональные гомологи с каждого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

49. Дрожжевая клетка по любому из пп.45-48, причем генотип II характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 гена:

1) ген, кодирующий PTR2 с SEQ ID NO:7 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним;

2) ген, кодирующий PTR2 с SEQ ID NO:8 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий PTR2 с SEQ ID NO:9 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

50. Дрожжевая клетка по любому из пп.45-49, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип I, такой как генотип I по любому из пп.39-41.

51. Дрожжевая клетка по любому из пп.45-50, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику III, такую как характеристика III по любому из пп.8-14.

52. Дрожжевая клетка по любому из пп.45-51, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику IV, такую как характеристика IV по любому из пп.15 и 16.

53. Дрожжевая клетка по любому из пп.45-52, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику V, такую как характеристика V по любому из пп.17-21.

54. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

III) содержащий ген, кодирующий UBR1.

55. Дрожжевая клетка, имеющая генотип:

III) содержащий ген, кодирующий UBR1.

56. Дрожжевая клетка по любому из пп.54 и 55, причем генотип II относится к указанной дрожжевой клетке, содержащей по меньшей мере два аллельных гена, кодирующих UBR1, независимо выбранный из группы, состоящей из UBR1, содержащего SEQ ID NO:10, UBR1 с SEQ ID NO:11, UBR1, содержащего SEQ ID NO:41, UBR1 с SEQ ID NO:42, UBR1, содержащего SEQ ID NO:45, и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

57. Дрожжевая клетка по любому из пп.54-56, причем генотип III характеризуется тем, что указанная дрожжевая клетка содержит ген, кодирующий UBR1, выбранный из группы, состоящей из UBR1, содержащего SEQ ID NO:10, UBR1 с SEQ ID NO:11 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

58. Дрожжевая клетка по любому из пп.54-57, причем генотип III характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 2 гена:

1) ген, кодирующий UBR1, содержащий SEQ ID NO:10 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним;

2) ген, кодирующий UBR2 с SEQ ID NO:11 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

59. Дрожжевая клетка по любому из пп.54-58, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип I, например генотип I по любому из пп.39-41.

60. Дрожжевая клетка по любому из пп.55-59, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип II такой как генотип II по любому из пп.46 и 49.

61. Дрожжевая клетка по любому из пп.55-60, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику III, такую как характеристика III по любому из пп.8-14.

62. Дрожжевая клетка по любому из пп.55-61, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику IV, такую как характеристика IV по любому из пп.15 и 16.

63. Дрожжевая клетка по любому из пп.55-62, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику V, такую как характеристика V по любому из пп.17-21.

64. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

IV) содержащий по меньшей мере 3 гена, как, например, по меньшей мере 4 гена, кодирующих IMA1p.

65. Дрожжевая клетка, имеющая генотип:

IV) содержащий по меньшей мере 3 гена, как, например, по меньшей мере 4 гена, кодирующих IMA1p.

66. Дрожжевая клетка по любому из пп.64 и 65, причем IMA1p выбран из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15, IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:23, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

67. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-66, причем генотип IV характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит по меньшей мере 2 коротких аллеля IMA1, при этом указанные два коротких аллеля IMA1 кодируют IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

68. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-67, причем генотип IV характеризуется тем, что указанная дрожжевая клетка содержит по меньшей мере 3 коротких аллеля IMA1, каждый из которых независимо является геном, кодирующим IMA1p, выбранным из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:1, IMA1p с SEQ ID NO:2, IMA1p с SEQ ID NO:3, IMA1p с SEQ ID NO:4, IMA1p с SEQ ID NO:5, IMA1p с SEQ ID NO:33 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

69. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-68, причем генотип IV характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит по меньшей мере 2 длинных аллеля IMA1, при этом указанные два длинных аллеля IMA1 кодируют IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

70. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-69, причем генотип IV характеризуется тем, что указанная дрожжевая клетка содержит по меньшей мере 3 коротких аллеля IMA1 и по меньшей мере 2 длинных аллеля IMA1, причем

a) 3 коротких аллеля IMA1 независимо являются генами, кодирующими IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:1, IMA1p с SEQ ID NO:2, IMA1p с SEQ ID NO:3, IMA1p с SEQ ID NO:4, IMA1p с SEQ ID NO:5, IMA1p с SEQ ID NO:33 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

b) указанные 2 длинных аллеля IMA1 независимо являются генами, кодирующими IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15, IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:23, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

71. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-70, причем генотип IV характеризуется тем, что дрожже-

вая клетка содержит по меньшей мере 5 генов, кодирующих IMA1p, причем указанные гены независимо выбраны из группы, состоящей из генов, кодирующих IMA1p с SEQ ID NO:1, IMA1p с SEQ ID NO:2, IMA1p с SEQ ID NO:3, IMA1p с SEQ ID NO:4, IMA1p с SEQ ID NO:5, IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15, IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:23, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и IMA1p с SEQ ID NO:33.

72. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-71, причем генотип IV характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 4 гена:

1) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:12 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:13 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:14 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

4) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:15 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

73. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-72, причем генотип IV характеризуется наличием по меньшей мере 3 длинных аллелей IMA1, кодирующих IMA1p, выбранный из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:3, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

74. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-73, причем генотип IV характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 гена:

1) двух генов, оба из которых кодируют IMA1p с SEQ ID NO:21 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:22 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

75. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-74, причем генотип IV характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 гена:

1) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:23 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:24 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий IMA1p с SEQ ID NO:25 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

76. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-75, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип I, например генотип I по любому из пп.39-41.

77. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-76, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип II, такой как генотип II по любому из пп.46 и 49.

78. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-77, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип III, такой как генотип III по любому из пп.55 и 58.

79. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-78, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику I, такую как характеристика I по любому из пп.3-4.

80. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-79, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику II, такую как характеристика II по любому из пп.1 и 5-7.

81. Дрожжевая клетка по любому из пп.64-80, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику IX, такую как характеристика IX по любому из пп.28-35.

82. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

V) содержащий ген, кодирующий IMA5p.

83. Дрожжевая клетка, имеющая генотип:

V) содержащий ген, кодирующий IMA5p.

84. Дрожжевая клетка по любому из пп.82 и 83, причем IMA5p выбран из группы, состоящей из IMA5p с SEQ ID NO:16, IMA5p с SEQ ID NO:17 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

85. Дрожжевая клетка по любому из пп.82 и 83, причем IMA5p выбран из группы, состоящей из IMA5p с SEQ ID NO:34, IMA5p с SEQ ID NO:35, IMA5p с SEQ ID NO:36 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

86. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-85, причем генотип V характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит по меньшей мере два гена, кодирующих IMA5p с SEQ ID NO:16 или IMA5p с SEQ ID NO:17 или функциональный гомолог любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

87. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-86, причем генотип V характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит по меньшей мере два аллельных гена, кодирующих IMA5p, независимо выбранных из аллельных генов, кодирующих IMA5p с SEQ ID NO:16, IMA5p с SEQ ID NO:17, IMA5p с SEQ ID NO:34, IMA5p с SEQ ID NO:35, IMA5p с SEQ ID NO:36, и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

88. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-87, причем генотип IV характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 2 гена:

1) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:16 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий IMA5p с SEQ ID NO:17 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

89. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-88, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип I, например генотип I по любому из пп.39-41.

90. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-89, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип II, такой как генотип II по любому из пп.46 и 49.

91. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-90, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип III, такой как генотип III по любому из пп.55 и 58.

92. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-91, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип IV, такой как генотип IV по любому из пп.64-75.

93. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-92, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику I, такую как характеристика I по любому из пп.3-4.

94. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-93, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику II, такую как характеристика II по любому из пп.1 и 5-7.

95. Дрожжевая клетка по любому из пп.82-94, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику IX, такую как характеристика IX по любому из пп.28-35.

96. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

VI) содержащий по меньшей мере 3 гена, кодирующих AGT1, выбранный из группы, состоящей из AGT1 с SEQ ID NO:18, AGT1 с SEQ ID NO:19, AGT1 с SEQ ID NO:20, AGT1 с SEQ ID NO:26, AGT1 с SEQ ID NO:27, AGT1 с SEQ ID NO:28, AGT1 с SEQ ID NO:29, AGT1 с SEQ ID NO:30, AGT1 с SEQ ID NO:31, AGT1 с SEQ ID NO:32 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

97. Дрожжевая клетка, имеющая генотип:

VI) содержащий по меньшей мере 3 гена, кодирующих AGT1, выбранный из группы, состоящей из AGT1 с SEQ ID NO:18, AGT1 с SEQ ID NO:19, AGT1 с SEQ ID NO:20, AGT1 с SEQ ID NO:26, AGT1 с SEQ ID NO:27, AGT1 с SEQ ID NO:28, AGT1 с SEQ ID NO:29, AGT1 с SEQ ID NO:30, AGT1 с SEQ ID NO:31, AGT1 с SEQ ID NO:32 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

98. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-97, причем дрожжевая клетка содержит по меньшей мере два гена, кодирующих полноразмерный AGT1, выбранный из группы, состоящей из AGT1 с SEQ ID NO:18, AGT1 с SEQ ID NO:19, AGT1 с SEQ ID NO:20, AGT1 с SEQ ID NO:27, AGT1 с SEQ ID NO:28, AGT1 с SEQ ID NO:30, AGT1 с SEQ ID NO:31, AGT1 с SEQ ID NO:32 и функциональных гомологов любого из вышеупомянутых по

меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

99. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-98, причем генотип VI характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 гена:

1) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:18 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:19 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:20 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

100. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-99, причем генотип VI характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 2 гена:

1) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:27 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:28 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

101. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-100, причем генотип VI характеризуется тем, что дрожжевая клетка содержит следующие 3 гена:

1) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:30 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

2) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:31 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним; и

3) ген, кодирующий AGT1 с SEQ ID NO:32 или его функциональный гомолог по меньшей мере с 80%, предпочтительно по меньшей мере с 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере с 95%, как, например, по меньшей мере с 98% идентичностью последовательности с ним.

102. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-101, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип I, например генотип I по любому из пп.39-41.

103. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-102, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип II, такой как генотип II по любому из пп.46 и 49.

104. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-103, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип III, такой как генотип III по любому из пп.55 и 58.

106. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-104, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип IV, такой как генотип IV по любому из пп.64-75.

106. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-105, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет генотип V, такой как генотип V по любому из пп.82-88.

107. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-106, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику I, такую как характеристика I по любому из пп.3 и 4.

108. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-107, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику II, такую как характеристика II по любому из пп.1 и 5-7.

109. Дрожжевая клетка по любому из пп.96-108, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет характеристику IX, такую как характеристика IX по любому из пп.28-35.

110. Способ получения напитка, причем указанный способ предусматривает стадии:

a) получения исходной жидкости;

b) получения дрожжевой клетки по любому из пп.1-109;

c) сбраживания указанной исходной жидкости при помощи указанной дрожжевой клетки с получением тем самым напитка.

111. Способ по п.110, причем исходная жидкость содержит водный экстракт ячменя.

112. Способ по любому из пп.110-111, причем исходная жидкость содержит водный экстракт солода.

113. Способ по любому из пп.110-112, причем исходная жидкость представляет собой сусло.

114. Способ по любому из пп.110-113, причем сбраживание проводят при температуре в диапазоне 10-20°C.

Примеры

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано приведенными далее примерами, которые, тем не менее, не следует истолковывать как ограничивающие настоящее изобретение.

В примерах применяли следующие штаммы дрожжей:

Название штамма дрожжей	Виды/описание
Лагерные дрожжи 1	<i>S. pastorianus</i>
Лагерные дрожжи 2	<i>S. pastorianus</i>
Элевые дрожжи 1	<i>S. cerevisiae</i>
<i>S. diastaticus</i> 1	<i>S. diastaticus</i>
Гибридные дрожжи 1	Гибрид между лагерными дрожжами 1 и лагерными дрожжами 1
Гибридные дрожжи 2	Гибрид между лагерными дрожжами 2 и лагерными дрожжами 1
Гибридные дрожжи 3	Гибрид между лагерными дрожжами 2 и лагерными дрожжами 1
Гибридные дрожжи 4	Гибрид между лагерными дрожжами 2 и лагерными дрожжами 1
Гибридные дрожжи 5	Гибрид между лагерными дрожжами 2 и лагерными дрожжами 1
Гибридные дрожжи 6	Гибрид между лагерными дрожжами 2 и лагерными дрожжами 1
Гибридные дрожжи 7	Гибрид между лагерными дрожжами 2 и лагерными дрожжами 1
Гибридные дрожжи 8	Гибрид между <i>S. diastaticus</i> 1 и лагерными дрожжами 1

Геномная последовательность гибридных дрожжей 1 представлена под SEQ ID NO:1 в приоритетной основополагающей заявке на выдачу патента Дании PA 2014 70825. Под SEQ ID NO:1 из PA 2014 70825 показана последовательность собранных скаффолдов из геномной последовательности гибрида 1. Последовательности представлены в формате fasta. Термин "скаффолд", применяемый в этом отношении, относится к части геномной последовательности, реконструированной из перекрытых контигов. Термин "контиг" относится к сплошной перекрывающейся последовательности, полученной в результате повторной сборки коротких фрагментов ДНК.

Под SEQ ID NO:1 из PA 2014 70825 приведена последовательность из суммарно 1629 скаффолдов, пронумерованных от 0 до 1628. В SEQ ID NO:1 из PA 2014 70825 последовательности каждого скаффолда предоставлены разделенными термином "> скаффолд_X", где X обозначает номер скаффолда с последующей последовательностью.

Таким образом, геном гибридных дрожжей 1 предпочтительно содержит все скаффолды с 0 по 1628, распределенные по множеству хромосом.

Геномная последовательность гибридных дрожжей 1 также доступна в DDQJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQJ00000000. Таким образом, результаты проекта Whole Genome Shotgun для гибридных дрожжей 1 были депонированы в DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQJ00000000. Описываемая в этом патенте версия является версией LOQJ01000000.

Данные при подаче были следующими:

SUBID	BioProject	BioSample	Номер доступа
SUB1207553	PRJNA304272	SAMN04297180	LOQJ00000000

В проекте Whole Genome Shotgun показана последовательность собранных скаффолдов из геномной последовательности гибрида 1. Термин "скаффолд", применяемый в этом отношении, относится к части

геномной последовательности, реконструированной из перекрытых контигов. Термин "контиг" относится к сплошной перекрывающейся последовательности, полученной в результате повторной сборки коротких фрагментов ДНК. В DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQJ00000000, версии LOQJ01000000, приведена последовательность из суммарно 8919 скаффолдов. Таким образом, геном гибридных дрожжей 1 предпочтительно содержит все скаффолды с 0 по 8919, распределенные по множеству хромосом. Соответственно дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может содержать все скаффолды с 0 по 8919, распределенные по множеству хромосом.

Геномная последовательность гибридных дрожжей 7 доступна в DDQJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQK00000000.

Таким образом, результаты проекта Whole Genome Shotgun для гибридных дрожжей 7 были депонированы в DBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQK00000000. Описываемая в этом патенте версия является версией LOQK01000000.

Данные при подаче были следующими:

SUBID	BioProject	BioSample	Номер доступа
SUB1208131	PRJNA304273	SAMN04297181	LOQK00000000

В проекте Whole Genome Shotgun показана последовательность собранных скаффолдов из геномной последовательности гибрида 7. Термин "скаффолд", применяемый в этом отношении, относится к части геномной последовательности, реконструированной из перекрытых контигов. Термин "контиг" относится к сплошной перекрывающейся последовательности, полученной в результате повторной сборки коротких фрагментов ДНК. В DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQK00000000, версии LOQK01000000, приведена последовательность из суммарно 9492 скаффолдов. Таким образом, геном гибридных дрожжей 7 предпочтительно содержит все скаффолды 0-9492, распределенные по множеству хромосом. Соответственно дрожжевая клетка по настоящему изобретению также может содержать все скаффолды 0-9492, распределенные по множеству хромосом.

Пример 1.

10 гл пива готовили путем инокуляции 10 млн жизнеспособных клеток/мл дрожжей в коммерческое солодовое сусло (16° Плато), поставляемое компанией Soufflet, с последующим сбраживанием при 17°C до тех пор, пока диацетил не превышал predetermined порог, который установлен на уровне, ниже порога, который считается придающим посторонний привкус в лагерном пиве. В настоящем примере порог для диацетила устанавливали на уровне 30 ppb.

В лагерных сортах пива вицинальные дикетоны, такие как диацетил и 2,3-пентандион, дают нежелательный сторонний привкус, если они присутствуют сверх пороговой концентрации. Как диацетил, так и 2,3-пентандион имеют аромат сливочных ирисок, но порог для диацетила в 10 раз ниже. Узел контроля брожения должен обеспечивать, чтобы готовое пиво содержало вицинальные дикетоны, особенно диацетил, ниже их пороговых значений.

Дрожжевые клетки размножали в одном танке (масштабом 9 гл), который применяли для получения клеточного инокулята 1-й генерации пива, за которым затем следовала 2-я генерация пива (масштабом по 10 гл каждого). Целью размножения является получение здоровой чистой культуры дрожжей в достаточных количествах для инокуляции дрожжей с целью основного сбраживания пива. Сбраживание пива проводят в последовательных сбраживаниях, и дрожжи обычно заменяют спустя 5-10 последовательных сбраживаний; тем не менее, частота введения вновь размножившихся дрожжей в пивоварню является индивидуальным решением. Последовательные сбраживания служат в качестве клеточного инокулята для последующего сбраживания пива, и зачастую танк для размножения обеспечивает дрожжевой клеточный инокулят лишь для первого сбраживания пива, так называемой 1-й генерации пива. Сбраживание пива, осуществляемое после 1-й генерации, называют 2-й генерацией и так далее, и так далее. Большинство сбраживаний пива проводят с дрожжами, полученными в результате предыдущего сбраживания пива, а не из танка для размножения. Клеточный инокулят для сбраживания пива обычно составляет 10^7 дрожжевых клеток/мл.

В этом примере применяли 3 различных штамма дрожжей. Использовали одинаковые условия сбраживания и одинаковое сусло.

Элевые дрожжи 1.

Лагерные дрожжи 1.

Гибридные дрожжи 1.

Элевые дрожжи 1 являются дрожжами вида *S. cerevisiae*. Лагерные дрожжи 1 являются дрожжами вида *S. pastorianus*. Элевые дрожжи 1 и лагерные дрожжи 1 гибридизировали, и из гибридных штаммов был отобран один, которому было дано название гибридные дрожжи 1.

В табл. 1 показаны конечные значения Плато, в табл. 2 показан % этанола (% об./об.), а в табл. 3 приведены окончательные значения RDF пива, дни, в течение которых диацетил сохраняется ниже predetermined порога, и дни главного брожения из пива 1-й и 2-й генерации в пиво, приготовленное с использованием 3 штаммов дрожжей в конце стадии с танком для размножения (9 гл) и/или в 1-й и 2-й генерации пива.

Гибридный штамм 1 обладает способностью расти при 37°C (данные не показаны), а также хорошо осуществляет сбраживание при более низких температурах, таких как 16°C (см. табл. 1-3).

Таблица 1

Значения Плато

Конечный ° Плато	Лагерные дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1	Элевые дрожжи 1
В конце размножения (9 гл), 16°C	2,54	1,97	2,03
Конечная 1-я генерация, 16°C	2,55	2,35	2,48
Конечная 2-я генерация, 18°C	2,86	2,37	3,36
СРЕДНЯЯ 1-я + 2-я генерация	2,7	2,36	2,92

Таблица 2

% этанола (% об./об.)

% ЭТАНОЛА (% об./об.)	Лагерные дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1	Элевые дрожжи 1
1-я генерация, 16°C	7,51	7,64	7,58
2-я генерация, 18°C	7,33	7,61	7,19
СРЕДНЯЯ 1-я + 2-я генерация	7,42	7,625	7,38

Таблица 3

Масштаб 10 гл - средняя 1-я + 2-я генерация (пиво 02 и 03)			
	Лагерные дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1	Элевые дрожжи 1
Название (дрожжи)	Лагерные дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1	Элевые дрожжи 1
Сусло, Плато	15,85	15,85	15,85
Тем-ра сбраживания	16°C и 18°C	16°C и 18°C	16°C и 18°C
Норма для засева дрожжей	10	10	10
RDF пива (%)	69,3	71,0	68,9
Дней, пока DA соответствует техническим нормам.	6,5	9	13
Дней для основного сбраживания	5,5	6	9,5

Норма для засева дрожжей является количеством жизнеспособных дрожжей/мл, добавляемым в качестве клеточного инокулята для начала сбраживания. Гибридные дрожжи 1 характеризовались улучшенным RDF с 2% по сравнению с двумя родительскими штаммами (лагерные дрожжи 1 и элевые дрожжи 1) (см. табл. 3). У гибридных дрожжей 1 также были более низкие уровни конечного Плато.

Гибридные дрожжи 1 характеризовались улучшенным выходом этанола, на 0,2% этанола или больше, по сравнению с двумя родительскими штаммами. Гибридные дрожжи 1 характеризовались улучшенными бродительными характеристиками при температуре 16 и 18°C. Гибрид 1 обладал улучшенными свойствами с точки зрения более короткого времени до тех пор, пока диацетил не превышал пороговый уровень (дней, пока DA соответствует техническим нормам) по сравнению с лагерными дрожжами 1.

Гибридные дрожжи 1 сбраживали почти с такой же скоростью, что и лагерные дрожжи 1 (см. дней для основного сбраживания в табл. 3), но у них было немного больше времени до тех пор, пока диацетил не превышал пороговый уровень (см. дней, пока DA соответствует техническим нормам).

Пример 2.

Дрожжевые клетки из замороженного исходного материала высевали штрихами на слои среды YPD. Их применяли для инокуляции 20 мл пастеризованного обычного солодового суслу в 50-мл бутылках и выращивали при температуре 22°C. Клеточные культуры из 20 мл культуры применяли для повторного введения клеток в 200 мл объем суслу в 500-мл бутылках и выращивали при 22°C. Из этих 200 мл объема суслу инокулировали танк для размножения емкостью 1,8 л с целью инокуляции 14-15 млн

жизнеспособных клеток/мл и выращивания при температуре 16 или 18°C (такой же, как и температура сбраживания). Солод, который применяли для приготовления сула, был приобретен у DMG в Дании.

Количество суммарных и жизнеспособных клеток измеряли с помощью NucleoCounter. Также измеряли количество жизнеспособных клеток из танка для размножения. 14-15 млн жизнеспособных клеток использовали для инокуляции 2 л сула с содержанием сахара 15° Плато, которому давали возможность сбраживаться в течение 6 дней при 16°C (гибридные дрожжи 2, 3 и 4 и соответствующие им контроли) или 18°C (гибридные дрожжи 1 и соответствующие им контроли) для получения так называемой 1-й генерации пива. В конце 1-й генерации 14-15 млн жизнеспособных клеток использовали для инокуляции 2-й генерации пива. На 4-й день инкубации определяли количество клеток в суспензии. Полученные количества клеток из пива из 2-й генерации показаны в табл. 4. Количество клеток в суспензии не отражает общий рост клеток, а скорее флокуляцию и/или седиментацию. Предпочтительно, чтобы количество клеток в суспензии было как можно меньшим на более поздних стадиях сбраживания, что свидетельствует о повышенной флокуляции и/или седиментации. Если флокуляция увеличивается слишком рано во время процесса, это может привести к преждевременной флокуляции, что приводит к вялому брожению в конце процесса.

Таблица 4а

2-я генерация пива, полученного 2-литровом масштабе. Показаны результаты из биологических дубликатов того же эксперимента

18°C сбраживания		
Дрожжи	норма для засева дрожжей миллионов/мл	клеток в суспензии (4-й день) миллионов/мл
Лагерные дрожжи 1	15	17
Лагерные дрожжи 1	15	19
Элевые дрожжи 1	15	12
Элевые дрожжи 1	15	22,6
Гибридные дрожжи 1	15	3,58
Гибридные дрожжи 1	15	3,75

Гибридные дрожжи 1 производили больше биомассы (в измерении на граммы собранных дрожжей), чем лагерные дрожжи 1, но при этом гибридные дрожжи 1 имели меньше клеток в суспензии.

Таблица 4b

16°C сбраживания		
Дрожжи	Норма для засева дрожжей миллионов/мл	клеток в суспензии (6-й день) миллионов/мл
Лагерные дрожжи 1	14	20
Лагерные дрожжи 1	14	23
Элевые дрожжи 1	14	14
Элевые дрожжи 1	14	13
Гибридные дрожжи 2	14	2,3
Гибридные дрожжи 2	14	3,2
Гибридные дрожжи 3	14	4,4
Гибридные дрожжи 3	14	3,3
Гибридные дрожжи 4	14	5,8
Гибридные дрожжи 4	14	5
Лагерные дрожжи 2	14	12
Лагерные дрожжи 2	14	23

Как показано выше, гибридные дрожжи 2, 3 и 4 имели меньше клеток в суспензии, чем лагерные дрожжи, хотя они продуцировали немного больше биомассы (в граммах собранных клеток в конце сбраживания).

В другом испытании было обнаружено, что гибридные дрожжи 2 имели 7 млн/мл клеток в суспензии спустя 6 дней сбраживания, тогда как элевые дрожжи 1 имели только 4 млн/мл клеток в суспензии, а лагерные дрожжи 2 имели 39 млн/мл клеток в суспензии спустя 6 дней сбраживания. Таким образом, также в этом испытании гибридные дрожжи имели значительно более низкий уровень клеток в суспензии по сравнению с лагерными дрожжами.

Гибриды, полученные из элевых дрожжей 1 и лагерных дрожжей 1 (гибридные дрожжи 1) или лагерных дрожжей 2 (гибридные дрожжи 2, 3, 4 и 7), имели меньше клеток в суспензии, чем два родительских штамма: элевые дрожжи 1 и любой из лагерных штаммов (лагерные дрожжи 1 или 2). Таким образом, гибриды характеризовались улучшенной седиментацией клеток. Это представляет интерес для пивоварения для того, чтобы избежать последующей обработки дрожжевой клеточной массы, которую нужно собирать и использовать для повторного засева клеток следующих генераций в процессе пивоварения.

варения.

Результаты еще одного испытания показаны в табл. 4с. Условия проведения эксперимента были такими, как описано выше в настоящем документе, за исключением того, что тестировали указанные дрожжевые клетки.

Таблица 4с

18°C Дрожжи 2-й генерации	Норма для засева дрожжей миллионов/мл	Дрожжевых суспензии (7-й день) миллионов/мл
Лагерные дрожжи 2	15,0	26
Лагерные дрожжи 2	15,0	28
Гибридные дрожжи 7	15,0	4
Гибридные дрожжи 7	15,0	8,3
Гибридные дрожжи 8	15,0	7,2
Гибридные дрожжи 8	15,0	7,5
<i>S. diastaticus</i>	15,0	40
<i>S. diastaticus</i>	15,0	39

Пример 3.

50 л пива готовили путем инокуляции обычного солодового суслу (18° Плато) 10 млн жизнеспособных клеток/мл дрожжей с последующим сбраживанием при 18°C. Солод, используемый для приготовления суслу, был приобретен у компании DMG в Дании.

Применяли 2 различных штамма дрожжей. Использовались одинаковые условия сбраживания и одинаковое сусло.

Лагерные дрожжи 1.

Гибридные дрожжи 1.

В табл. 5а приведены конечные значения АЕ пива для 2 сравниваемых штаммов в танке объемом 50 л из пива, полученного с 1- и 2-й генерацией.

Применяемая в настоящем документе аббревиатура АЕ означает "видимое содержание экстрактивных веществ", которое является мерой плотности пивного суслу, выраженной в проценте экстрактивных веществ по массе, и выражается по шкале Плато.

Таблица 5а

Лагерные 1 в сравнении с гибридными 1 - тест в 50 л		
Пиво 1-й генерации		
Название штамма	Лагерные дрожжи 1	Гибридные 1
Генерация	1	1
Сусло, Плато (исходное значение)	17,76	17,76
Температура сбраживания	18	18
Норма для засева дрожжей	10	10
АЕ пива	3,21	2,71
2-я генерация пива		
Название штамма		
Название штамма	Лагерные дрожжи 1	Гибридные 1
Генерация	2	2
Сусло, Плато (исходное значение)	17,91	17,91
Температура сбраживания	18	18
Норма для засева дрожжей	10	10
АЕ пива	3,46	2,86

Гибридные дрожжи 1 характеризовались улучшенным 0,5% АЕ на 0,5% в сравнении с лагерными дрожжами 1.

Аналогичный тест проводили с лагерными дрожжами 2, гибридными дрожжами 4, гибридными дрожжами 7, гибридными дрожжами 8 и *S. diastaticus*. АЕ и RDF на 7-й день после засева показаны в табл. 5b. Условия проведения эксперимента были такими, как описано выше в настоящем документе для эксперимента 2 с указанными тестируемыми дрожжевыми клетками.

Таблица 5b

18°C генерация 2 дрожжей	Норма для засевания дрожжей, миллионов/мл	АЕ после 7 дней, % Плато	RDF, 7-й день
Лагерные дрожжи 2	15,0	3,01	64,4
Лагерные дрожжи 2	15,0	2,93	66,3
Гибридные дрожжи 4	15,0	2,49	69,0
Гибридные дрожжи 4	15,0	2,53	68,8
Гибридные дрожжи 7	15,0	2,35	69,0
Гибридные дрожжи 7	15,0	2,39	69,6
Гибридные дрожжи 8	12,4	1,1	75,9
Гибридные дрожжи 8	12,4	1,12	75,1
<i>S. diastaticus</i>	14,7	1,66	75,3
<i>S. diastaticus</i>	15,0	1,67	73,0
	Лагерные дрожжи 2	Гибридные дрожжи 4	Гибридные дрожжи 7
Сред. АЕ, 7 дней	2,97	2,51	2,37
Дополнительное АЕ относительно лагерных дрожжей 2		0,46	0,6
Сред. RDF, 7 дней	65,35	68,9	69,3
Дополнительная RDF относительно лагерных дрожжей 2		3,55	3,95

RDF приведена в %.

Также определяли степень сбраживания для лагерных дрожжей 2, гибридных дрожжей 4 и 7. Условия проведения эксперимента были такими, как описано в настоящем документе для эксперимента 2, за исключением того, что видимое содержание экстрактивных веществ определяли в нескольких моментах времени в ходе сбраживания, а инкубирование происходило при температуре 18°C. На фиг. 16 показано видимое содержание экстрактивных веществ в ° Плато с течением времени после засевания суслу. Используемое сусло имело исходное содержание сахара в 15° Плато. Как показано, время основного сбраживания для гибридных дрожжей 4 и 7 составляло приблизительно 3 дня, тогда как время основного сбраживания для лагерных дрожжей 2 составляло приблизительно 4 дня.

Пример 4.

Содержание аминокислот в исходном сусле и пиве, полученном, как описано в примере 1, определяли с помощью HPLC с флуоресцентным детектором. В табл. 6а показана концентрация аминокислот в конечном пиве.

Таблица 6а

		Лагерные дрожжи 1	Элевые дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1	% уменьшения аминокислот в конечном пиве, сваренном гибридными дрожжами 1 по сравнению с лагерными дрожжами 1
Аспарагиновой кислоты в сусле	мг/л	32	51	3	90%
Глутаминовой кислоты в сусле	мг/л	44	47	14	68%
Серина в сусле	мг/л	11	23	8	27%
Гистидина в сусле	мг/л	42	46	25	40%
Глицина в сусле	мг/л	49	57	35	28%
Треонина в сусле	мг/л	12	16	5	58%
Аргинина в сусле	мг/л	152	136	86	43%
Аланина в сусле	мг/л	147	145	80	45%
Тирозина в сусле	мг/л	129	140	118	8%
Метионина в сусле	мг/л	26	28	10	61%
Валина в сусле	мг/л	136	159	121	11%
Фенилаланина в сусле	мг/л	134	166	117	12%
Изолейцина в сусле	мг/л	59	71	33	44%
Лейцина в сусле	мг/л	113	173	78	31%
Лизина в сусле	мг/л	29	25	1	97%

Гибридные дрожжи 1 имели гораздо меньше оставшихся аминокислот в конечном пиве, что выгодно с точки зрения выдерживания пива и стабильности пива. В пиве, сброживаемом гибридом 1, будет вырабатываться меньшее количество альдегидов, получаемых в результате расщепления по Штреккеру, которые образуются из этих аминокислот.

Альдегиды, полученные в результате расщепления по Штреккеру, являются важными составляющими вкуса "выдержанного" пива, которые частично образуются из аминокислот собственно разлитого в бутылки пива. В число аминокислот, для которых было показано, что они участвуют в образовании альдегидов в реакции Штреккера с низким порогом чувствительности, входят валин, изолейцин, лейцин, метионин и фенилаланин (табл. 2). Образование альдегидов в реакции Штреккера играет решающую роль, поскольку увеличение их концентрации приводит к увеличению сенсорного восприятия "вкусовых оттенков выдержанного продукта". Пиво, сброживаемое гибридными дрожжами 1, будет иметь меньше вкусовых оттенков выдержанного продукта из-за более высокого потребления аминокислот.

Таблица 2

Аминокислоты, которые выполняют роль предшественников при образовании альдегидов в реакции Штреккера, придающих сторонний привкус

Аминокислота	Альдегид в реакции Штреккера
Метионин	Метиональ
Лейцин	3-метилбутаналь
Валин	2-метилпропаналь
Изолейцин	2-метилбутаналь
Фенилаланин	Фенилацетальдегид, бензальдегид

Получали продукт другого сброживания лагерными дрожжами 2, гибридными дрожжами 4 или гибридными дрожжами 7 и определяли концентрацию аминокислот в "молодом пиве" на 7-й день сброживания. Результат показан в табл. 6б. Условия проведения эксперимента были такими, как описано для эксперимента 2, а анализ аминокислот проводили, как описано в примере 9. Гибриды, особенно гибридные дрожжи 7, имели меньше аминокислот, оставшихся в "молодом пиве", чем лагерные дрожжи 2; это

означает, что присутствовало меньше предшественников для образования соединений, отвечающих за формирование вкуса выдержанного пива.

Таблица 6б

Аминокислота		Лагерные дрожжи 2	Гибридные дрожжи 4	% уменьшения аминокислот у гибридных дрожжей 4 по сравнению с лагерными дрожжами 2	Гибридные дрожжи 7	% уменьшения аминокислот у гибридных дрожжей 7 по сравнению с лагерными дрожжами 2
His	мг/л	40	25,5	36,25%	11,5	71,25%
Asn	- " -	8,5	5,5	35,3%	3	64,7%
Ser	- " -	3	3,5	Н/Д	0	100%
Gln	- " -	32	3	90,6%	0	100%
Arg	- " -	52	24	53,85%	6,5	87,5%
Gly	- " -	50,5	49,5	2,0%	26,5	47,5%
Asp	- " -	17,5	6,5	62,9%	2	88,6%
Glu	- " -	75,5	20	73,5%	8,5	88,7%
Thr	- " -	0	2	Н/Д	0	Н/Д
Ala	- " -	175,5	131	25,3%	36	79,5
Pro	- " -	606,5	656,5	Н/Д	599,5	1,15%
Cys	- " -	0	0	Н/Д	0	Н/Д
Lys	- " -	2	1	Н/Д	1	Н/Д
Tyr	- " -	110	117	Н/Д	91	17,3%
Met	- " -	7,5	5,5	26,7%	2	73,3%
Val	- " -	113,5	117	Н/Д	66,5	43,2%
Ile	- " -	44	31,5	28,4%	6	86,4%
Leu	- " -	74,5	62	16,8%	18,5	75,2%
Phe	- " -	97	99	Н/Д	58	40,2%
Trp	- " -	51,5	51	1%	40,5	21,3%

(Н/Д) - нет данных;

Источники.

Baert, J. J., J. De Clippeleer, P. S. Hughes, L. De Cooman and G. Aerts (2012). "On the Origin of Free and Bound Staling Aldehydes in Beer." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**(46): 11449-11472.

Clapperton, J. F. and I. C. MacWilliam (1971). "Fermentation of minor wort carbohydrates by brewing yeasts." *Journal of the Institute of Brewing* **77**(6): 519-522.

Deng, X., M. Petitjean, M. A. Teste, W. Kooli, S. Tranier, J. M. Francois and J. L. Parrou (2014). "Similarities and differences in the biochemical and enzymological properties of the four isomaltases from *Saccharomyces cerevisiae*." *FEBS Open Bio* **4**: 200-212.

Teste, M. A., J. M. Francois and J. L. Parrou (2010). "Characterization of a new multigene family encoding isomaltases in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, the IMA family." *J Biol Chem* **285**(35): 26815-26824.

Пример 5.

50 л пива готовили, как указано в примере 3, путем инокуляции обычного солодового суслу (16° Плато), приготовленного из двух различных видов солода.

Обычное солодовое суслу инокулировали 10 млн жизнеспособных клеток/мл дрожжей с последующим сбраживанием при 16°C до тех пор, пока диацетил в пиве не превышал пороговый уровень, как

указано в примере 1.

Другое сусло инокулировали 15 млн жизнеспособных клеток/мл дрожжей с последующим сбраживанием при 16°C для лагерных дрожжей 1 и 18°C для гибридных дрожжей 1, до тех пор, пока диацил в пиве не превышал пороговый уровень, как указано в примере 1.

Использовали 2 различных штамма дрожжей и два различных сусла, полученных из 2 различных солодов. Для параллельного сравнения 2 штаммов использовали одинаковые условия сбраживания и одинаковое сусло.

Лагерные дрожжи 1.

Гибридные дрожжи 1.

Уровень изомальтозы и панозы в пиве определяли с помощью HPLC. Результаты показаны в табл.

7.

Таблица 7

Дрожжи	Солод	Изомальтоза (мг/л)	Паноза (мг/л)
Лагерные дрожжи 1	Солод 1	390	300
Гибридные дрожжи 1	Солод 1	15	160
Лагерные дрожжи 1	Солод 2	240	240
Гибридные дрожжи 1	Солод 2	15	60

Исходная концентрация панозы и изомальтозы зависит от сусла, но было опубликовано, что она находится в диапазоне от 0,5 до 1 г/л изомальтозы и от 0,4 до 0,8 г/л панозы (Clapperton et al. 1971). Таким образом, полагают, что гибридные дрожжи 1 используют в диапазоне от 60 до 93% панозы.

Количественные данные об использовании панозы и изомальтозы получали путем измерения роста различных дрожжей в определенной среде с 2 г/л панозы или 2 г/л изомальтозы в качестве единственных источников углерода.

Дрожжевые клетки из замороженного исходного материала высевали штрихами на слои среды YPD (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% глюкозы и 2% агар-агара) и инокулировали растущие клетки в жидкую YPD (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% глюкозы).

3 мкл выращенной за ночь жидкой культуры YPD инокулировали в 100 мкл культуры YNB (6,7 г/л без аминокислот, но с сульфатом аммония, и забуферивали гидрофталатом калия до pH 5,5 (Hahn-Nagerdal B. et al. 2005) и с 2 г/л панозы или 2 г/л изомальтозы в качестве единственных источников углерода. Рост клеток отслеживали путем измерения оптической плотности на 600 нм при непрерывном перемешивании и инкубировании при температуре 20°C с помощью MBR Bioscreen C (Oy Growth Curves Ab Ltd, Финляндия).

У выбранных штаммов гибридных дрожжей из лагерных и элевых с улучшенными бродительными характеристиками была приобретена способность использовать панозу (фиг. 1А) и изомальтозу (фиг. 2). Повышение использования сахаров проиллюстрировано для двух гибридов на фиг. 1А и 2А.

Аналогичные эксперименты проводили с лагерными дрожжами 1, лагерными дрожжами 2 и гибридными дрожжами 7, а также с *S. diastaticus* и гибридными дрожжами 8 с использованием определенной среды с 2 г/л панозы в качестве единственного источника углерода. Результаты соответственно показаны на фиг. 1В и 1С и отражали биологическую воспроизводимость. Как можно видеть, ни лагерные дрожжи 1, ни лагерные дрожжи 2, ни *S. diastaticus* не могли использовать панозу в качестве единственного источника углерода.

Аналогичные эксперименты также проводили с лагерными дрожжами 1, лагерными дрожжами 2 и гибридными дрожжами 7 с использованием определенной среды с 2 г/л изомальтозы в качестве единственного источника углерода. Результаты показаны на фиг. 2В и отражали биологическую воспроизводимость. Как можно видеть, ни лагерные дрожжи 1, ни лагерные дрожжи 2, ни *S. diastaticus* не могли использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода.

Источники.

Clapperton J F, MacWilliam I C (1971) Fermentation of minor wort carbohydrates by brewing yeasts. *Journal of the Institute of Brewing* 77, 6: 519-522.

Hahn-Hägerdal B, Karhumaa K, Larsson CU, Gorwa-Grauslund M, Görgens J, van Zyl WH. (2005). Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use. *Microbial Cell Factories* 10: 4-31.

Пример 6.

Дрожжевые клетки из замороженного исходного материала высевали штрихами на слои среды YPD. Их применяли для инокуляции 3 мл жидкой YPD и выращивали в течение ночи при перемешивании при 22°C в пробирках объемом 15 мл. 3 мл выращенной культуры центрифугировали, надосадочную жидкость отбрасывали, а клетки растворяли в воде. Пробирки еще раз центрифугировали, надосадочную

жидкость отбрасывали и остаток растворяли в 3 мл воды.

Измеряли оптическую плотность (OD₆₂₀ нм) и корректировали для начала на OD = 0,2 для всех штаммов и растворов лунок 96-луночных планшетов, коммерчески поставляемых Biolog Inc. technology (Hayward CA, США). Все решения для планшетов от Biolog были специализированы для процедур с *S. cerevisiae* и другими дрожжами. 96-луночные планшеты инкубировали в течение 4,5 дня при 22°C.

Система от Biolog позволяет количественно анализировать уровень тысяч клеточных фенотипов в одном эксперименте. Каждая лунка анализа предназначена для тестирования одного индивидуального фенотипа. В системе Biolog используется химия окислительно-восстановительных реакций в качестве общей репортерной системы для анализа клеточного дыхания. Она содержит тетразолиевый краситель, который восстанавливается, проявляя цвет, если клетка может при дыхании использовать соединение, присутствующее в лунке, или в присутствии соединения в этой конкретной лунке.

Сравнивали три штамма дрожжей, 2 родительских штамма (лагерные дрожжи 1 и элевые дрожжи 1) и полученный гибрид (гибридные дрожжи 1). Подробности по штаммам дрожжей приведены в примере 1. В некоторых условиях у 3 штаммов наблюдали различия в фенотипе. Гибридный штамм 1 смог приобрести новые фенотипические характеристики, например способность использовать несколько дипептидов и некоторые трипептиды (см. табл. 8а).

Таблица 8а

Пептиды	Легерные дрожжи 1	Элевые дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1
MET-TYR	-	-	+
LEU-TYR	-	-	+
VAL-MET	-	-	+
PHE-TYR	-	-	+
ILE-LEU	-	-	+
ILE-ASN	-	-	+
GLY-GLY-GLY	-	-	+

+ обозначает рост на среде, содержащей указанные пептиды в качестве единственного источника азота;
- обозначает отсутствие роста на среде, содержащей указанные пептиды в качестве единственного источника азота.

В аналогичном эксперименте сравнивали 6 штаммов дрожжей, а именно штаммы лагерных дрожжей 1, лагерные дрожжи 2, элевые дрожжи 1, гибридные дрожжи 1, гибридные дрожжи 4 и гибридные дрожжи 7. Результаты приведены ниже в табл. 8б. Как видно, у гибридов присутствовали новые свойства, которые не наблюдали у родителей. У лагерных дрожжей 1 наблюдали незначительный рост на Ile-Asn в данном эксперименте даже в том случае, когда наблюдали отсутствие роста в предыдущем эксперименте. Тем не менее, рост лагерных дрожжей 1 был все еще значительно меньшим, чем рост гибридных дрожжей 1.

Таблица 8б

Пептиды	Легерные дрожжи 1	Легерные дрожжи 2	Элевые дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1	Гибридные дрожжи 4	Гибридные дрожжи 7
Gly-Arg	-	-	-	-/+	+	+
Ile-Asn	-/+	-	-	+	+	+
Lys-Tyr	-/+	-	-	-/+	+	+
Met-Lys	-/+	-	-	-/+	+	+
Val-Ala	-/+	-	-	+	+	+
Val-Asn	-	-	-	-/+	+	+
Val-Gly	-	-	-	-/+	+	+
Val-Gln	-	-	-	+	+	+
Val-Met	-	-	-	+	+	-/+
Val-Ser	-/+	-	-	+	+	+

У гибридных дрожжей 4 и 7 не наблюдали какого-либо значительного роста на Met-Tyr, Leu-Tyr, Phe-Tyr, Ile-Leu или Gly-Gly-Gly в качестве единственного источника азота.

У гибридных дрожжей 1 также были приобретены несколько фенотипов, которые не были обнаружены у лагерных дрожжей 1, например способность расти на нескольких дипептидах, имеющих формулу Ala-Xaa, где Xaa может быть любой аминокислотой. Эта способность зачастую связана со способностью

использовать аллантаин, который также могут использовать гибридные дрожжи (см. табл. 9а).

Таблица 9а

Пептиды	Лагерные дрожжи 1	Элевые дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1
Ala-Glu	-	+	+
Ala-Gly	-	+	+
Ala-His	-/+	+	+
Ala-Thr	-/+	+	+
Аллантаин	-	+	+

+ обозначает рост на среде, содержащей указанные пептиды в качестве единственного источника азота;

- обозначает отсутствие роста на среде, содержащей указанные пептиды в качестве единственного источника азота;

-/+ обозначает замедленный рост или рост с лаг-фазой.

Также гибридные дрожжи 4 и 7 способны использовать дипептиды Ala-Xaa в качестве единственного источника азота, что видно из табл. 9b.

Таблица 9b

Пептиды	Лагерные дрожжи 2	Гибридные дрожжи 4	Гибридные дрожжи 7
Ala-Glu	-	-/+	+
Ala-Gly	-	-/+	+
Ala-Thr	-/+	+	+

Дипептиды и трипептиды являются частью FAN. FAN является свободным аминным азотом и является показателем содержания азота в сусле или пиве. FAN состоит из аминокислот, ионов аммония и небольших пептидов, которые присутствуют в сусле, и они обеспечивают дрожжам необходимые бродильные характеристики (Lekkas C., et al. 2009). В сусле можно найти множество различных дипептидных комбинаций.

Гибридные дрожжи 1 могут использовать несколько различных протестированных дипептидов/трипептидов, которые могут присутствовать в сусле, и, таким образом, имеют более высокий диапазон субстратов из FAN, которые могут быть предшественниками для клеточной биомассы, источником углерода или предшественниками для ароматических веществ.

Источники

Lekkas C, Hill AE, Taidi B, Hodgson J, Stewart GG (2009). The role of small wort peptides in brewing fermentations. J. Inst. Brew. 115 (2), 134-139.

Пример 7.

Качественные данные об использовании мелибиозы получали путем засеивания в нескольких повторностях жидких культур на YPD дрожжей, выращенных в 96-луночном планшете, в планшеты с YP-Galactose (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% галактозы и 2% агар-агара) с 50 мкг/мл X-альфа-gal (Clontech, Маунтин-Вью, США) и инкубировали планшеты в течение 5 дней при 22°C. X-альфа-gal является хромогенным аналогом мелибиозы, и если дрожжи могут использовать мелибиозу, колония дрожжей станет синей, а если дрожжи не могут использовать мелибиозу, то колония дрожжей будет белой.

Из результатов видно (табл. 9), что все тестируемые лагерные дрожжи были положительными в отношении использования мелибиозы (синий цвет колонии), все тестируемые элевые дрожжи были отрицательными в отношении использования мелибиозы (белый цвет колонии), а гибриды были положительными или отрицательными в отношении использования мелибиозы (синий или белый цвет колонии) в зависимости от того, что они унаследовали.

Таблица 9

Дрожжи	Цвет колонии дрожжей
Лагерные дрожжи 1, 2, 3 и 4	Синий
Элевые дрожжи 1, 2, 3, 4 и 5	Белый
Гибридные дрожжи 1	Белый
Гибридные дрожжи 4	Синий
Гибридные дрожжи 5	Синий
Гибридные дрожжи 6	Синий

Количественные данные по мелибиозе получали путем измерения роста дрожжей в определенной среде с 2 г/л мелибиозы в качестве единственного источника углерода.

Дрожжевые клетки из замороженного исходного материала высевали штрихами на слой среды

YPD, а растущие клетки инокулировали в жидкую YPD.

3 мкл выращенной за ночь жидкой культуры YPD инокулировали в 100 мкл культуры YNB (6,7 г/л) без аминокислот, но с сульфатом аммония, забуферивали гидрофталатом калия до pH 5,5 (Hahn-Hägerdal B. et al. 2005) и с 2 г/л мелибиозы в качестве источника углерода. Рост клеток отслеживали путем измерения оптической плотности на 600 нм при непрерывном перемешивании и инкубировании при температуре 20°C с помощью MBR Bioscreen C (Oy Growth Curves Ab Ltd, Финляндия). Гибриды лагерных дрожжей и элевых дрожжей приобретали способность использовать мелибиозу, но не все гибриды (это проиллюстрировано на трех гибридах на фиг. 3).

Источники

Hahn-Hägerdal B, Karhumaa K, Larsson CU, Gorwa-Grauslund M, Görgens J, van Zyl

WH. (2005). Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use. *Microbial Cell Factories* 10: 4-31.

Пример 8. Улучшенное использование дисахаридов и трисахаридов.

50 л пива готовили, как указано в примере 3, путем инокуляции солодового сусла 15 млн жизнеспособных клеток/мл с последующим сбраживанием до тех пор, пока диацетил не превышал 30 ppb. Солод готовили из обычного пивоваренного ячменя или из ячменя нуль-LOX.

Использовали 2 различных штамма дрожжей: лагерные дрожжи 1 и гибридные дрожжи 1. Для параллельного сравнения 2 штаммов использовали одинаковые условия сбраживания и одинаковое сусло, за исключением того, что сбраживание при помощи лагерных дрожжей 1 проводили при 18°C, в то время как сбраживание при помощи гибридных дрожжей 1 проводили при 16°C. Готовили три независимых варки с одинаковыми штаммами и определяли уровень различных сахаров с помощью NMR, репрезентативные результаты показаны на фиг. 4 для уровней конкретных сахаров, которые различались в конечном бутылочном пиве.

Из результатов NMR видно, что гибридные дрожжи 1 характеризовались улучшенным использованием изомальтозы, панозы, нигерозы, койбиозы и других неопознанных углеводов (фиг. 4). Тем не менее, лагерные дрожжи 1 не могли использовать эти сахара.

Дисахарид изомальтоза, мальтулоза и трисахариды паноза и мальтотриулоза являются второстепенными сахарами в среде сусла, используемой для варки пива (Clapperton and MacWilliam 1971). Из наших результатов видно, что также были и другие дисахариды, такие как нигероза, койбиоза и трегалоза, которые присутствовали в пиве, сваренном с лагерными дрожжами 1 (фиг. 4). Улучшение использования таких сахаров, присутствующих в низких количествах, может способствовать лучшему использованию общего сахара и улучшению выработки на выходе этанола гибридными дрожжами 1.

Пример 9.

50 л пива из 1-й генерации готовили путем инокуляции обычного солодового сусла (13,6° Плато), приготовленного из всего солода, 15 млн жизнеспособных дрожжевых клеток/мл в качестве инокулята с последующим сбраживанием при 18°C в течение 5 дней и при 14°C в течение 2 дней. Клеточный инокулят получали из предыдущего танка для размножения. Солод, который применяли для приготовления сусла, был приобретен у DMG в Дании. На 6-й день образцы сброженного сусла, соответствующие образцам "молодого пива", отбирали и центрифугировали, а надосадочные жидкости замораживали при -20°C до их анализа (таблица 10). Концентрацию свободных аминокислот определяли с помощью UPLC с детектированием на фотодиодной матрице с использованием набора для дериватизации AccQ-Tag Ultra derivatization kit от Waters, фактически как описано поставщиком. Разделения проводили на колонке для анализа аминокислот Waters AccQ-Tag Ultra Amino acid Analysis Column с использованием предварительно смешанного элюента А и В в соответствии с инструкциями производителя (Waters). Образец исходного сусла, используемого для сбраживания, также сравнивали с образцами, которые уже были подвергнуты сбраживанию. Концентрацию аминокислот сравнивали для всех образцов молодого пива относительно образца исходного сусла (табл. 10).

Уровень остаточных аминокислот в молодом пиве, сброженном при помощи гибридных дрожжей, был намного ниже в сравнении с молодым пивом, сброженным лагерными дрожжами 1, что является преимущественным с точки зрения выдержки пива и стабильности пива. Полагают, что в пиве, изготовленном с использованием гибридных дрожжей, из этих аминокислот в процессе хранения будет образовываться меньшее количество альдегидов по реакции Штреккера. Альдегиды, полученные в результате расщепления по Штреккеру, являются важными составляющими вкуса "выдержанного" пива, которые частично образуются из аминокислот собственно разлитого в бутылки пива. Аминокислотами, для которых показано образование альдегидов в реакции Штреккера, с низким порогом чувствительности, являются валин, изолейцин, лейцин, метионин и фенилаланин (Baert, De Clippeleer et al. 2012). Образование альдегидов в реакции Штреккера играет решающую роль, поскольку увеличение их концентрации приводит к увеличению сенсорного восприятия "вкусовых оттенков выдержанного продукта". Пиво, сваренное с использованием гибридных дрожжей 1 и 4, будет иметь меньше вкусовых оттенков выдержанного продукта из-за более высокого потребления аминокислот, и этот эффект будет более выраженным при сбраживаниях с высокой плотностью или в суловых солодах с более высокими концентрациями источ-

ников FAN.

Аминокислота пролин также использовалась гибридными дрожжами 1 и 4, но не лагерными дрожжами в молодом пиве. Аминокислота пролин является основным аминокислотным компонентом в сусле, хотя она и является наиболее трудной для усвоения, поэтому гибридные дрожжи с улучшенным использованием пролина будут обладать такой дополнительной способностью использовать этот источник азота, который не может быть использован лагерными дрожжами.

Таблица 10

Аминокислотный анализ (мг/л) молодого пива со дня

	His	Asn	Ser	Gln	Arg	Gly	Asp
ИСХОДНОЕ СУСЛО	44	78	65	21	93	27	56
МОЛОДОЕ ПИВО							
Гибридные дрожжи 1							
Общий уровень	4	2	0	15	0	6	0
(% от уровня в сусле)	(9%)	(3%)	(0%)	(71%)	(0%)	(22%)	(0%)
МОЛОДОЕ ПИВО							
Лагерные дрожжи 1							
Общий уровень	18	3	2	20	11	20	3
(% от уровня в сусле)	(41%)	(4%)	(3%)	(95%)	(12%)	(74%)	(5%)
МОЛОДОЕ ПИВО							
Гибридные дрожжи 4							
Общий уровень	10	2	0	17	3	11	0
(% от уровня в сусле)	(23%)	(3%)	(0%)	(81%)	(3%)	(41%)	(0%)
	Glu	Thr	Ala	Pro	Cys	Lys	Tyr
ИСХОДНОЕ СУСЛО	84	50	92	270	0	74	78
МОЛОДОЕ ПИВО							
Гибридные дрожжи 1							
Общий уровень	0	0	4	227	0	2	0
(% от уровня в сусле)	(0%)	(0%)	(4%)	(84%)	(0%)	(3%)	(0%)
МОЛОДОЕ ПИВО							
Лагерные дрожжи 1							
Общий уровень	21	0	68	270	0	4	22
(% от уровня в сусле)	(25%)	(0%)	(74%)	(100%)	(0%)	(5%)	(28%)
МОЛОДОЕ ПИВО							
Гибридные дрожжи 4							
Общий уровень	2	0	14	250	13	2	0
(% от уровня в сусле)	(2%)	(0%)	(15%)	(93%)	-	(3%)	(0%)
	Met	Val	Ile	Leu	Phe	Trp	Общая сумма
ИСХОДНОЕ СУСЛО	24	88	47	112	98	48	1448
МОЛОДОЕ ПИВО							
Гибридные дрожжи 1							
Общий уровень	0	0	0	0	0	3	263
(% от уровня в сусле)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(6%)	(18%)
МОЛОДОЕ ПИВО							
Лагерные дрожжи 1							
Общий уровень	0	15	2	2	10	28	518
(% от уровня в сусле)	(0%)	(17%)	(4%)	(2%)	(10%)	(58%)	(36%)
МОЛОДОЕ ПИВО	0	2	0	2	0	18	346
Гибридные дрожжи 4	(0%)	(2%)	(0%)	(2%)	(0%)	(38%)	(24%)
Общий уровень							
(% от уровня в сусле)							

Baert, J. J., J. De Clippeleer, P. S. Hughes, L. De Cooman and G. Aerts (2012). "On the Origin of Free and Bound Staling Aldehydes in Beer." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(46): 11449-11472.

Пример 10. Геномную последовательность гибридных дрожжей 1, описанных в примере 1, определяли, как описано далее.

Экстракцию геномной ДНК и секвенирование всего генома, а также сборку генома проводили LGC Genomics GmbH (Берлин, Германия). Для дополнительного индивидуального секвенирования генов, экстракцию геномной ДНК штаммов проводили с помощью набора для очистки ДНК дрожжей MasterPure™ Yeast DNA Purification Kit (Epicenter, Plurima Denmark ApS, Копенгаген, Дания). ПЦР-амплификацию с геномной ДНК проводили с помощью смеси ферментов для высокоточной ПЦР с корректирующей экзонуклеазной активностью или полимеразы Dream Taq с низким числом циклов ПЦР, причем обе они были от Thermo Fisher Scientific Baltics UAB (Вильнюс, Литва). ПЦР-продукты очищали с помощью набора NucleoSpin PCR Clean-up (Macherey-Nagel, Дюрен, Германия). Клонирование ПЦР-продуктов проводили с помощью набора для секвенирования TOPO®TA Cloning® и отбирали на слоях среды LB с ампициллином, дополненных бета-Х-галактозой. Плазмиды очищали с помощью набора GeneJET Plasmid Miniprep kit от Thermo Fisher Scientific Baltics UAB (Вильнюс, Литва). Секвенирование плазмид проводили в Eurofins Genomics (Эберсберг, Германия).

Гибридные дрожжи 1, лагерные дрожжи 1 и элевые дрожжи 1 анализировали в отношении различных выбранных генов с использованием либо собранной последовательности генома, и/либо последовательности ПЦР-продуктов. Последовательность белка получали из последовательности генов или из последовательности ПЦР-продуктов с использованием генетического кода.

Гибридные дрожжи 4, гибридные дрожжи 7 и лагерные дрожжи 2 анализировали в отношении различных выбранных генов с использованием последовательности ПЦР-продуктов. Последовательности получали с помощью ПЦР-амплификации с ферментом для высокоточной ПЦР с корректирующей экзонуклеазной активностью с последующим клонированием и секвенированием отдельных ПЦР-клонов, при необходимости. Аллельные гены гибридных дрожжей 4 и гибридных дрожжей 7 были идентифицированы с помощью ПЦР, клонирования и секвенирования. Аллельные гены лагерных дрожжей 2 были идентифицированы с помощью ПЦР и секвенирования (IMA1) или собраны с геномной последовательности (AGT1). Последовательность белка получали из последовательности ПЦР-продуктов с использованием генетического кода.

Представленные здесь аллели LONG-IMA1 определяются комбинацией из 3 аминокислот: I (изолейцин) или T (треонин) в положении 165, R (аргинин) или K (лизин) в положении 287 и Y (тирозин) или F (фенилаланин) в положении 336. При этом аминокислотным опознавательным мотивом для аллелей Ale 1 LONG IMA1 являются I-R-F и I-K-F. Лагерные дрожжи 1 и лагерные дрожжи 2 содержат мотив T-R-Y. Гибридные дрожжи 1 содержат аллель с I-K-F и аллель с T-R-Y. Гибридные дрожжи 4 содержат мотив I-R-F. Гибридные дрожжи 4 также содержат новый гибридный аллель с опознавательным мотивом I-R-Y. Гибридные дрожжи 7 содержат аллель с I-K-F и аллель с T-R-Y. Гибридные дрожжи 7 также содержат новый гибридный аллель с мотивом I-R-Y, который идентичен белку, кодируемому у гибридных дрожжей 4.

В табл. 11а подытожен статус различных генов, задействованных в использовании дипептида, у лагерных дрожжей 1, элевых дрожжей 1 и гибридных дрожжей 1.

Таблица 11а

Ген	Функция	Лагерные дрожжи 1	Элевые дрожжи 1	Гибридные дрожжи 1
<i>DAL5*</i>	Транспорт дипептидов с Ala на N-конце	<i>отличный от Sc</i>	<i>Sc</i>	<i>Sc</i> аллель, кодирующий SEQ ID NO:6
<i>PTR2**</i>	Транспортер пептидов (ди-/трипептидов)	<i>Sc</i> ; <i>отличный от Sc</i>	<i>Sc</i>	2 <i>Sc</i> аллеля, кодирующих SEQ ID NO:7 и SEQ ID NO:8;

				отличный от <i>Sc</i> аллель, кодирующий SEQ ID:9
<i>UBR1</i> ***	убиквитин-лигаза E3 (N-рекогинн): путь расщепления пептидов	<i>Sc</i> ; отличный от <i>Sc</i>	<i>Sc</i> (ранний стоп-кодон — укороченный белок)	<i>Sc</i> аллель, кодирующий <i>UBR1</i> , содержащий SEQ ID NO:10; отличный от <i>Sc</i> аллель, кодирующий SEQ ID NO:11

*DAL5 является примером гена, наследуемого гибридными дрожжами 1 от родительских элевых дрожжей 1. Термин *Sc* в отношении DAL5 относится к белку DAL5 *S. cerevisiae* с SEQ ID NO:6. Выравнивание последовательностей белка DAL5 показано на фиг. 5.

** PTR2 является примером, в котором гибридные дрожжи 1 имели увеличенное число копий. Таким образом, гибридные дрожжи 1 унаследовали отличный от *Sc* аллель от лагерных дрожжей 1 и по меньшей мере 2 *Sc* аллеля от обоих их родителей. Исследовали только фрагменты аллелей PTR2 гибридных дрожжей 1.

****UBR1* является примером гена с дополнением активности у гибридных дрожжей 1. Элевые дрожжи 1 кодируют укороченный белок (900 аминокислот вместо 1951 аминокислоты), что приводит к отсутствию домена, ответственного за активацию расщепления *Cup9p* и, следовательно, к репрессированию экспрессии PTR2; гибридные дрожжи 1 унаследовали как *Sc* аллель, так и отличный от *Sc* аллель от лагерных дрожжей 1, поэтому дополнение активности *Ubr1p* приводит к расщеплению *Cup9p* и, следовательно, последующей возможности активации экспрессии PTR2. Выравнивание аллелей *Sc* из PTR2 у элевых дрожжей 1, гибридных дрожжей 1 и лагерных дрожжей 1 показано на фиг. 6, а выравнивание отличных от *Sc* аллелей лагерных дрожжей 1 и гибридных дрожжей 1 показано на фиг. 7.

Дополнительно исследовали геномные последовательности гибридных дрожжей 1 и гибридных дрожжей 7, а результаты обобщены в табл. 11b. Эти анализы были основаны на геномных последовательностях, соответственно доступных в DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQJ00000000, версии LOQJ01000000, и в DDBJ/EMBL/GenBank под номером доступа LOQK00000000, версии LOQK01000000PTR2.

Анализ аллельной вариации PTR2 проводили на основе геномных последовательностей (см. номера доступа выше). Как гибридные дрожжи 1, так и гибридные дрожжи 7 сохраняли копию отличного от *Sc*_PTR2. В табл. 11a представлена фрагментарная копия *Sc* гибридных дрожжей 1. В табл. 11b показана интактная копия *Sc*_PTR2 у гибридных дрожжей 1 в геномной последовательности. Возможно, чтобы гибридные дрожжи 1 содержали 3 аллеля, кодирующих PTR2, как указано в табл. 11a. Гибридные дрожжи 7 также имеют *Sc*_PTR2. У обоих гибридов белковая последовательность *Sc*_PTR2 характеризовалась гибридизацией между *Sc*_PTR2 элевых дрожжей 1 и копиями *Sc*_PTR2 лагерных дрожжей 1 и 2.

Анализ DAL5 аллельной вариации проводили на основе геномных последовательностей (см. номера доступа выше). Гибридные дрожжи 1 и гибридные дрожжи 7 сохраняли *Sc*_DAL5 от элевых дрожжей 1. Гибридные дрожжи 7 также сохраняли отличный от *Sc*_DAL5.

Анализ *UBR1* аллельной вариации проводили на основе геномных последовательностей (см. номера доступа выше). Оба вида родительских лагерных дрожжей имели копию *Sc*, которая была по-разному укорочена. Раньше поиск по геномным данным для лагерных дрожжей 1 давал лишь фрагментарную последовательность, которая не позволяла определить ранний стоп-кодон. Оба вида гибридных дрожжей сохраняли отличный от *Sc* *UBR1* от родительских лагерных дрожжей. Копия *Sc*, обнаруженная у обоих гибридов, наследовалась от родительских элевых дрожжей 1.

Таблица 11b

	Лагерные дрожжи 2 (лагерные 2)	Элевые дрожжи 1 (элевые 1)	Гибридные дрожжи 1 (гибрид 1)	Гибридные дрожжи 7 (гибрид 7)
<i>PTR2</i>	Копия_Sc_копия_отличного от Sc	Копия_Sc с отличием по 6 аминокислотам от Sc-копии лагерных дрожжей	Один Sc_подобный гибридный аллель, кодирующий SEQ ID NO:43; Один отличный от Sc аллель, кодирующий SEQ ID NO:44	Один Sc_подобный гибридный аллель, кодирующий белок, содержащий SEQ ID NO.37; один отличный от Sc аллель, кодирующий SEQ ID NO:38
<i>DAL5</i>	Копия_отличного от Sc	Копия_Sc	Одна копия_Sc (см. таблицу 11a)	Один Sc аллель, кодирующий SEQ ID NO:39; Один отличный от Sc аллель, кодирующий SEQ ID NO:40
<i>UBR1</i>	Sc_копия, укороченная, 1544; отличная от Sc_копия	Sc_копия, укороченная, 900 аминокислот;	Один Sc аллель, кодирующий белок, содержащий SEQ ID NO:45 Один отличный от Sc аллель (см. таблицу 11a)	Один аллель_Sc — такой же, что и в элевых 1, кодирующий белок, содержащий SEQ ID NO: 41; Один отличный от Sc_аллель, кодирующий SEQ ID NO:42

В табл. 12a подытожен статус различных генов, задействованных в использовании сахаров, у лагерных дрожжей 1, элевых дрожжей 1 и гибридных дрожжей 1.

	Лагерные 1	Элевые 1	Гибридные 1
<i>IMA1_Короткий_аллель_Sc</i>	Не обнаружен	1 аллель	2 аллеля, кодирующие соответственно SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:13.
<i>IMA1_Длинный_аллель_Sc</i>	1, кодирующий аллель с 99% идентичностью аминокислотной последовательности с <i>Saccharomyces cerevisiae</i> AWR11631 и Kyokai № 7	2 аллеля	1 аллель, схожий с таковым лагерных 1, кодирующий SEQ ID NO: 14 1 аллель, схожий с аллелем элевых 1, кодирующий SEQ ID NO: 15
<i>IMA5</i>	<u>2 аллеля</u> <i>Аллель 1:</i> Sc-IMA5-подобная копия, <i>Аллель 2:</i> отличный от Sc-IMA5	<u>1 аллель</u> Sc-IMA5-подобная копия	<u>2 аллеля</u> <i>отличная от Sc-IMA5-подобная копия, кодирующая SEQ ID NO: 16</i> <u>Sc-IMA5-подобный</u> , схожий с аллелем элевых 1, кодирующий SEQ ID NO: 17
<i>AGT1</i>	<u>2 аллеля, но лишь один функционален:</u>	<u>1 аллель</u> Sc КОПИЯ	<u>3 аллеля</u> Отличная от sc копия, на 100% идентичная отличной
	<u>Аллель 1:</u> Sc копия имеет <u>СТОП-кодон</u> (экстра Т в поли-Т) → укороченный CDS. <u>Аллель 2:</u> <u>Отличная от Sc копия</u> , кодирующая белок с 87% идентичностью последовательности с S288C		от Sc копии AGT1, обнаруженной у лагерных 1. Отличная от sc копия AGT1 кодирует SEQ ID NO: 18. 2 Sc аллеля, очень схожих с Sc копией, обнаруженной у элевых 1, кодирующие соответственно SEQ ID NO:19 и SEQ ID NO:20.

В табл. 12b подытожен статус различных генов, задействованных в использовании сахаров, у лагерных дрожжей 2, гибридных дрожжей 4 и гибридных дрожжей 7.

	Лагерные дрожжи 2	Гибридные дрожжи 4	Гибридные дрожжи 7
<i>ДЛИННЫЙ_ИМА1</i>	1 аллель	3 аллеля Два аллеля, кодирующие SEQ ID NO:21, и один аллель, кодирующий SEQ ID NO:22. Все аллели имеют гибридную природу, основанную	3 аллеля Один аллель идентичен аллелю лагерных 2 и кодирует SEQ ID NO: 24; один аллель идентичен одному из аллелей элевых 1
		на нуклеотидной последовательности.	и кодирует SEQ ID NO: 23; и один аллель имеет гибридную природу и кодирует SEQ ID NO: 25.
<i>AGT1</i>	2 аллеля <u>Аллель 1: Sc аллель</u> содержит <u>СТОП-кодон</u> <u>предварительного созревания</u> и <u>кодирует</u> укороченный белок <u>Аллель 2: Отличный от Sc аллель</u>	3 аллеля <u>Аллель 1: Sc аллель</u> , содержащий <u>СТОП-кодон</u> , кодирующий укороченный белок, SEQ ID NO: 26. <u>2 отличных от Sc аллеля</u> : один — идентичен отличной от Sc копии лагерных 2, кодирующей SEQ ID NO: 28, и один — кодирующий SEQ ID NO: 27, имеющий изменение по 1 аминокислоте;	<u>4 аллеля</u> : <u>2 отличных от Sc аллеля</u> : один — идентичен отличной от Sc копии лагерных 2, кодирующей SEQ ID NO: 31, и один — кодирующий SEQ ID NO: 32, имеющий изменение по 1 аминокислоте <u>2 Sc аллеля</u> : один — идентичен Sc аллелю элевых 1, кодирующему SEQ ID NO:30, а другой — идентичен Sc аллелю лагерных 2, кодирующему
			укороченный белок SEQ ID NO:29.

В использование изомальтозы может быть вовлечено несколько генов. В их число входит *Agt1p*, являющийся транспортером сахаров, который может транспортировать изомальтозу. Кроме того, существует 5 различных изомальтазных ферментов, которые являются альфа-1,6-глюкозидазами, но также обладают другими глюкозидазными активностями.

На основании информации о геномной последовательности, ген *ИМА1* с полной кодирующей последовательностью не был идентифицирован у лагерных дрожжей 1, и другие штаммы *S. pastorianus*, обнаруженные в базе данных NCBI, также не имели копии гена *ИМА1* *S. cerevisiae*. Что интересно, гиб-

ридные дрожжи 1 содержали 4 различных аллеля гена IMA1 с двумя различными длинами.

IMA5-подобная последовательность присутствовала в геноме лагерных дрожжей 1. У гибридных дрожжей 1 было 2 аллеля: один - отличная от *S. cerevisiae* копия, идентичная аллелю лагерных дрожжей 1, и один - *S. cerevisiae* копия, очень схожая с последовательностью, обнаруженной у элевых дрожжей 1, но с изменениями по 3 аминокислотам.

Было показано, что транспорт мальтотриозы и изомальтозы облегчается высокоаффинным альфа-глюкозидным транспортером, кодируемым геном AGT1. Этот транспортер обладает широкой субстратной специфичностью.

У лагерных дрожжей 1 нами была обнаружена лишь одна полная копия транспортера AGT1 отличного от *S. cerevisiae* происхождения, копия *S. cerevisiae* была укороченной. Гибридные дрожжи 1, напротив, имели 3 полных копии гена AGT1, одна из которых идентична отличной от *S. cerevisiae*, обнаруживаемая у лагерных дрожжей 1, и два аллеля *S. cerevisiae*, очень схожие с генами AGT1, обнаруживаемыми в элевых дрожжах 1, но имела изменение по одной аминокислоте.

У гибридных дрожжей 4 были выявлены 2 полноразмерных копии отличных от *S. cerevisiae* AGT1, причем одна копия несла изменение по 1 аминокислоте. У гибридных дрожжей 7 были выявлены 3 полноразмерных копии: одна - полностью идентична AGT1 элевых дрожжей 1, а 2 аллеля - отличных от *S. cerevisiae* AGT1, причем одна копия несла изменение по 1 аминокислоте.

Помимо описанного выше исследования геномной последовательности, дополнительную информацию получали на короткой форме IMA1 у лагерных дрожжей 1 и лагерных дрожжей 2, а также у гибридных дрожжей 1, гибридных дрожжей 4 и гибридных дрожжей 7 путем клонирования и секвенирования с использованием праймеров, специфичных к локусу короткой формы IMA1 элевых дрожжей 1, как описано ранее. Исходя из информации по геномной последовательности, ген короткой формы IMA1 не был обнаружен в геномных последовательностях лагерных дрожжей 1 и лагерных дрожжей 2. Тем не менее, из результатов клонирования и секвенирования короткой формы IMA1 от обеих родительских форм лагерных дрожжей было видно, что присутствовал один ген, но он кодировал белок с разницей в 6 аминокислот от соответствующего короткого белка IMA1 элевых дрожжей 1. Данные обобщены в приведенной ниже табл. 12с.

У гибридных дрожжей 1 при помощи клонирования и секвенирования выявляли 3 коротких аллеля IMA1: два описанных выше аллеля и дополнительный аллель с гибридной природой на основе нуклеотидной последовательности, а также на основе уровня белка (последовательность белка представлена под SEQ ID NO:1). Гибридные дрожжи 4 и 7 сохраняли короткую форму IMA1 от обоих родителей, но при помощи клонирования также были выявлены дополнительные аллели с уникальными изменениями аминокислоту обоих гибридов. Таким образом, все три гибридных штамма содержали 3 коротких аллеля IMA1.

Анализ аллельной вариации IMA5 проводили на основе последовательностей, доступных в геномных последовательностях. Помимо описанных выше аллелей в табл. 12а, гибридные дрожжи 1 содержали один дополнительный аллель. Таким образом, как гибридные дрожжи 1, так и гибридные дрожжи 7 сохраняли копии Sc_IMA5 и отличного от Sc_IMA5. Гибридные дрожжи 7 имели уникальный гибридный аллель Sc_IMA5, полученный в результате рекомбинации между лагерными дрожжами 1 и лагерными дрожжами 2 в локусе Sc_IMA5. Гибридизация очевидна из нуклеотидных последовательностей и видна на белковой последовательности.

Таблица 12с

	Лагерные дрожжи 1 (лагерные 1)	Лагерные дрожжи 2 (лагерные 2)	Элевые дрожжи 1 (элевые 1)
<i>IMA1</i> короткая форма	<u>1</u> аллель, клонированный при помощи ПЦР с отличиями по 6 аминокислотам от элевых 1	<u>1</u> аллель, клонированный при помощи ПЦР и идентичный таковому у лагерных 1 (SEQ ID NO:2)	<u>1</u> аллель (подтвержденный клонированием)
<i>IMA5</i>	<u>2</u> аллеля Копия <i>Sc_IMA5</i> (отличия по 3 аминокислотам с элевыми 1) Отличный от <i>Sc_IMA5</i>	<u>2</u> аллеля Копия <i>Sc_IMA5</i> 1 (идентичная таковой у лагерных 1) отличный от <i>Sc_IMA5</i> (имеет 2 SNP относительно лагерных 1 в кодирующем участке)	<u>1</u> аллель Копия <i>Sc-IMA5</i>
	Гибридные дрожжи 1 (гибрид 1)	Гибридные дрожжи 4 (гибрид 4)	Гибридные дрожжи 7 (гибрид 7)
<i>IMA1</i> короткая форма	<u>3</u> аллеля, обнаруженные посредством клонирования: один аллель (vA) идентичен аллелю у элевых 1, а один аллель (vB) является таким же, как и у элевых 1 с	<u>3</u> аллеля, обнаруженные посредством клонирования: один аллель идентичен аллелю у лагерных 2 и кодирует SEQ ID NO:2; один аллель идентичен аллелю у элевых 1, кодирующий SEQ ID NO:3, а другой аллель	<u>3</u> аллеля, обнаруженные посредством клонирования: один аллель идентичен аллелю от лагерных 2 и кодирует SEQ ID NO:5; один аллель идентичен аллелю от элевых 1 и кодирует SEQ ID NO:33; Один аллель схож с аллелем от лагерных 2 с

	изменением по одной аминокислоте. Эти два аллеля кодируют SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:13. Один аллель является уникальным у гибрида 1 и кодирует SEQ ID NO:1	имеет нуклеотидное изменение, но также кодирует SEQ ID NO:3.	нуклеотидным изменением и уникальным аминокислотным изменением (SEQ ID NO:4).
<i>IMA5</i>	<u>3 аллеля</u> один аллель <i>Sc IMA5</i> , схожий с аллелем элевых 1, кодирующий SEQ ID NO: 17; один уникальный аллель, выявленный с помощью клонирования, кодирующий IMA5 с уникальными изменениями по 3 аминокислотам (SEQ ID NO:34); один отличный от <i>Sc IMA5</i> аллель, подобный аллелю лагерных 1, кодирующий SEQ ID NO:16.	Н/Д	<u>2 аллеля</u> один аллель <i>Sc_IMA5</i> , который является уникальной гибридной копией, кодирующей SEQ ID NO:35; Один отличный от <i>Sc_IMA5</i> аллель, идентичный аллелю лагерных 2, кодирующей SEQ ID NO: 36.

Пример 11.

Данные об использовании мальтулозы, мальтотриозы и койбиозы получали путем измерения роста различных дрожжей в определенной среде с 2 г/л мальтулозы, или 2 г/л мальтотриозы или 2 г/л койбиозы в качестве единственных источников углерода.

Дрожжевые клетки из замороженного исходного материала высевали штрихами на слой среды YPD (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% глюкозы и 2% агар-агара) и инокулировали растущие клетки в жидкую YPD (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% глюкозы).

3 мкл выращенной за ночь жидкой культуры YPD инокулировали в 100 мкл культуры YNB (6,7 г/л) без аминокислот, но с сульфатом аммония, и забуферивали гидрофталатом калия до pH 5,5 (Hahn-Hagerdal B. et al. 2005) и с 2 г/л мальтулозы или 2 г/л мальтотриозы или 2 г/л койбиозы в качестве единственных источников углерода.

Рост клеток отслеживали путем измерения оптической плотности на 600 нм при непрерывном перемешивании и инкубировании при температуре 20°C с помощью MBR Bioscreen C (Oy Growth Curves Ab Ltd, Финляндия).

Тестировали, были ли способны элевые дрожжи 1, гибридные дрожжи 1, гибридные дрожжи 4 и гибридные дрожжи 7 использовать мальтотриозу в качестве единственного источника углерода. Результаты показаны на фиг. 13.

Также тестировали, были ли способны элевые дрожжи 1, гибридные дрожжи 1, гибридные дрожжи 4, гибридные дрожжи 7, *S. diastaticus* и гибридные дрожжи 8 использовать мальтулозу в качестве единственного источника углерода. Результаты показаны на фиг. 14.

Также тестировали, были ли способны элевые дрожжи 1, лагерные дрожжи 1, лагерные дрожжи 2, *S. diastaticus*, гибридные дрожжи 1, гибридные дрожжи 4, гибридные дрожжи 7 и гибридные дрожжи 8 использовать койбиозу в качестве единственного источника углерода. Результаты показаны на фиг. 15. Как можно видеть, ни лагерные дрожжи 1, ни лагерные дрожжи 2 не могли использовать койбиозу в качестве единственного источника углерода, тогда как только *S. diastaticus* очень слабо могли использо-

вать единственный источник углерода - койбиозу.

Пример 12.

Для дополнительного исследования реальной степени сбраживания, полученной при сбраживании с использованием гибридных дрожжей 7, проводили крупномасштабные испытания. Сусла, приготовленное в большом масштабе из разных смесей, сбраживали в разных местах либо с помощью лагерных дрожжей 2, либо с помощью гибридных дрожжей 7 до тех пор, пока диацетил соответствовал техническим нормам. Определяли реальную степень сбраживания (RDF). В табл. 13 показано абсолютное увеличение % RDF, полученного после сбраживания с помощью гибридных дрожжей 7, в сравнении с RDF, полученным после сбраживания с помощью лагерных дрожжей 2.

Сусло готовили путем затирания солода, ячменя (т.е. неосоложенных зерен ячменя) и риса в различных соотношениях. Кроме того, добавляли различные количества глюкозной патоки. Соотношения солод:ячмень:глюкозная патока:рис, используемое для приготовления различного сусла, также указаны в табл. 13.

Таблица 13

Страна	Польша	Индия	Финляндия	Россия
Рецепт (солод:ячмень:глюкозная патока:рис)	51:20:29:0	35:0:0:65	68:22:10:0	73:20:7:0
Увеличение RDF	2%	1%	3%	2,3%

Сокращения:

RDF - реальная степень сбраживания,

YPD - (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% глюкозы),

слои среды YPD (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% глюкозы и 2% агар-агара),

YNB (основа азотного агара для дрожжей),

OD: оптическая плотность,

HPLC: высокоэффективная жидкостная хроматография,

слои среды YPGalactose (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% галактозы и 2% агар-агара).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Дрожжевая клетка для приготовления сбраженного напитка, имеющая следующую характеристику и генотипы:

характеристика II: способна использовать панозу в качестве единственного источника углерода; и

генотип IV: содержащий по меньшей мере 3 гена, кодирующих IMA1p, причем IMA1p выбраны из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15, IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:23, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и их функциональных гомологов, последовательность которых по меньшей мере на 80% идентична последовательности любого из вышеупомянутых генов; и

генотип VI: содержащий по меньшей мере 2 гена, кодирующих AGT1, выбранных из группы, состоящей из AGT1 с SEQ ID NO:18, AGT1 с SEQ ID NO:19, AGT1 с SEQ ID NO:20, AGT1 с SEQ ID NO:27, AGT1 с SEQ ID NO:28, AGT1 с SEQ ID NO:30, AGT1 с SEQ ID NO:31, AGT1 с SEQ ID NO:32 и их функциональных гомологов, последовательность которых по меньшей мере на 80% идентична последовательности любого из вышеупомянутых генов; и

характеристика VIII: способна использовать мелибиозу в качестве единственного источника углерода.

2. Дрожжевая клетка по п.1, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

I - способна использовать изомальтозу в качестве единственного источника углерода.

3. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую(ие) характеристику(ки):

III - способна использовать один или несколько дипептидов в качестве единственного источника азота и/или

IV - способна использовать один или несколько трипептидов в качестве единственного источника азота.

4. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую(ие) характеристику(ки):

VI - способна вырабатывать по меньшей мере 4,7 промилле этанола на ° Плато при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию сусла с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам; и/или

VII - способна сбраживать сахар с реальной степенью сбраживания (RDF) по меньшей мере 68, как,

например, по меньшей мере 70, при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании до тех пор, пока уровень диацетила соответствует техническим нормам, причем диацетил соответствует техническим нормам, если уровень диацетила составляет не более 30 ppb.

5. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет характеристику VII, причем характеристика VII заключается в том, что дрожжевая клетка способна сбраживать сахар с RDF, которая по меньшей мере на 1, как, например, по меньшей мере на 2 выше RDF одного из ее родительских штаммов.

6. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

X - способна оседать так, чтобы не более 12 млн, как, например, не более 10 млн клеток/мл находилось в суспензии при добавлении указанной дрожжевой клетки в композицию суслу с содержанием сахара по меньшей мере 10° Плато и инкубировании в течение 4 дней.

7. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка дополнительно имеет следующую характеристику:

VIII - способна использовать мелибиозу в качестве единственного источника углерода и/или

IX - способна использовать один или несколько дисахаридов и/или трисахаридов в дополнение к изомальтозе, панозе и/или мелибиозе.

8. Дрожжевая клетка по п.7, причем дисахарид выбран из группы, состоящей из мальтулозы, койбиозы, нигерозы, сахарозы, туранозы, лейкозы и палатинозы.

9. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка, помимо всего прочего, имеет следующую характеристику:

XI - способна сбраживать суслу со временем главного брожения не более 4 дней, например не более 3 дней.

10. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

содержащий ген, кодирующий DAL5, причем аллельный ген, кодирующий DAL5, кодирует DAL5, например, выбранный из группы, состоящей из DAL5 с SEQ ID NO:6, DAL5 с SEQ ID NO:39, DAL5 с SEQ ID NO:40 и их функциональных гомологов, последовательность которых по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 95%, как, например, по меньшей мере на 98% идентична последовательности любого из вышеупомянутых генов.

11. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

II, содержащий по меньшей мере 2 аллельных гена, кодирующих PTR2, причем указанные по меньшей мере 2 аллельных гена, кодирующих PTR2, например, независимо выбраны из группы, состоящей из генов, кодирующих PTR2 с SEQ ID NO:7, PTR2 с SEQ ID NO:8, PTR2 с SEQ ID NO:9, PTR2, содержащий SEQ ID NO:37, PTR2 с SEQ ID NO:38, PTR2 с SEQ ID NO:43, PTR2 с SEQ ID NO:44 и их функциональные гомологи, последовательность которых по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 95%, как, например, по меньшей мере на 98% идентична последовательности каждого из вышеупомянутых генов.

12. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

III, содержащий ген, кодирующий UBR1, причем UBR1, например, выбран из группы, состоящей из UBR1, содержащего SEQ ID NO:10, UBR1 с SEQ ID NO:11, UBR1, содержащего SEQ ID NO:41, UBR1 с SEQ ID NO:42, UBR1, содержащего SEQ ID NO:45, и их функциональных гомологов, последовательность которых по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 95%, как, например, по меньшей мере на 98% идентична последовательности любого из вышеупомянутых генов.

13. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

IV, содержащий по меньшей мере 3 гена, кодирующих IMA1p, причем IMA1p, например, выбран из группы, состоящей из IMA1p с SEQ ID NO:12, IMA1p с SEQ ID NO:13, IMA1p с SEQ ID NO:14, IMA1p с SEQ ID NO:15, IMA1p с SEQ ID NO:21, IMA1p с SEQ ID NO:22, IMA1p с SEQ ID NO:23, IMA1p с SEQ ID NO:24, IMA1p с SEQ ID NO:25 и их функциональных гомологов, последовательность которых по меньшей мере на 95% идентична последовательности любого из вышеупомянутых генов.

14. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

V, содержащий ген, кодирующий IMA5p, предпочтительно по меньшей мере 2 аллельных гена, кодирующих IMA5p, причем IMA5p, например, выбран из группы, состоящей из IMA5p с SEQ ID NO:16, IMA5p с SEQ ID NO:17, IMA5p с SEQ ID NO:34, IMA5p с SEQ ID NO:35, IMA5p с SEQ ID NO:36 и их функциональных гомологов, последовательность которых по меньшей мере на 80%, предпочтительно по

меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 95%, как, например, по меньшей мере на 98% идентична последовательности любого из вышеупомянутых генов.

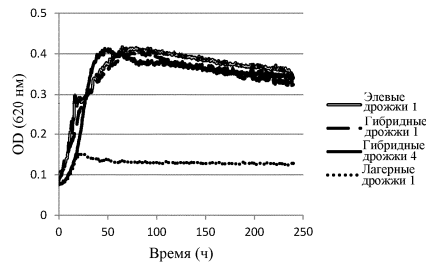
15. Дрожжевая клетка по любому из предыдущих пунктов, причем дрожжевая клетка имеет генотип:

VI, содержащий по меньшей мере 3 гена, кодирующих AGT1, выбранный из группы, состоящей из AGT1 с SEQ ID NO:18, AGT1 с SEQ ID NO:19, AGT1 с SEQ ID NO:20, AGT1 с SEQ ID NO:26, AGT1 с SEQ ID NO:27, AGT1 с SEQ ID NO:28, AGT1 с SEQ ID NO:29, AGT1 с SEQ ID NO:30, AGT1 с SEQ ID NO:31, AGT1 с SEQ ID NO:32 и их функциональных гомологов, последовательность которых по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 95%, как, например, по меньшей мере на 98% идентична последовательности любого из вышеупомянутых генов.

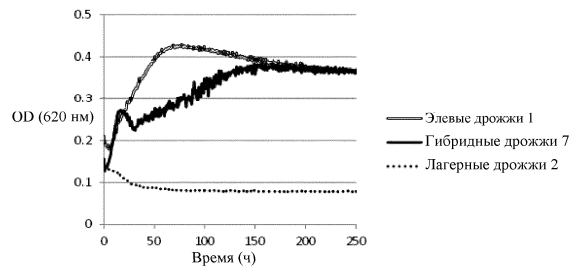
16. Способ получения напитка, причем указанный способ включает стадии:

- обеспечения исходной жидкости, содержащей сусло и/или водный экстракт солода;
- обеспечения дрожжевой клетки по любому из пп.1-14;
- сбраживания указанной исходной жидкости при помощи указанной дрожжевой клетки с получением тем самым напитка.

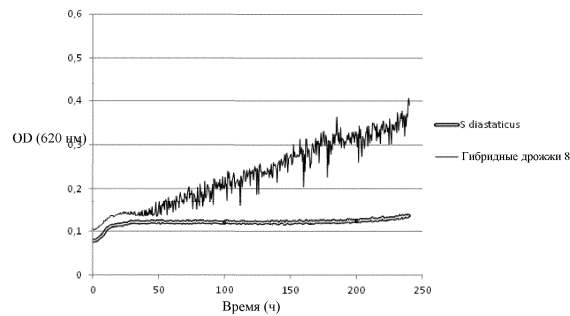
А)



В)

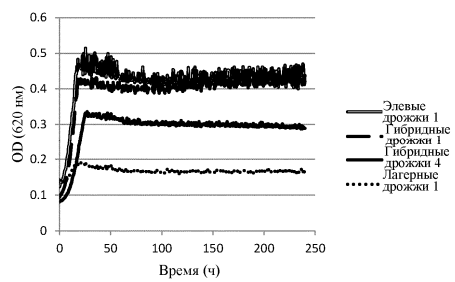


С)

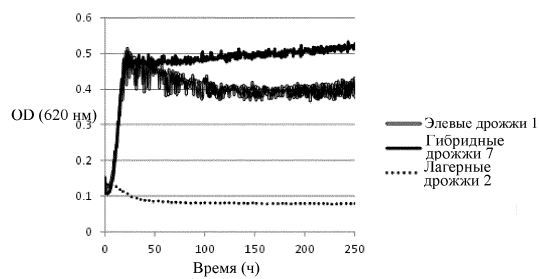


Фиг. 1

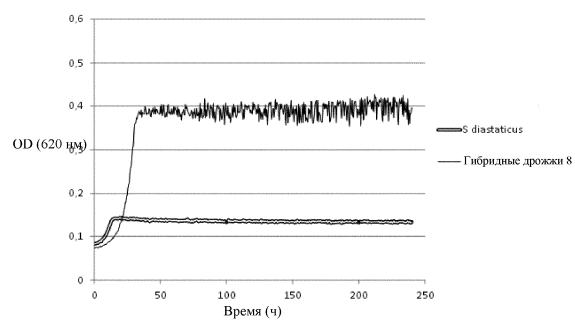
А)



В)

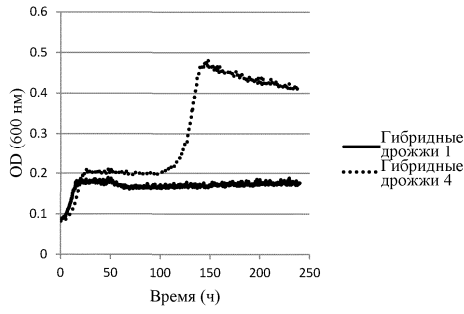


С)

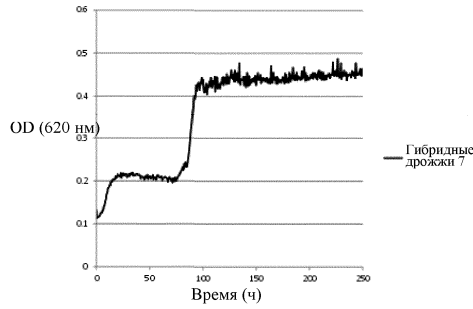


Фиг. 2

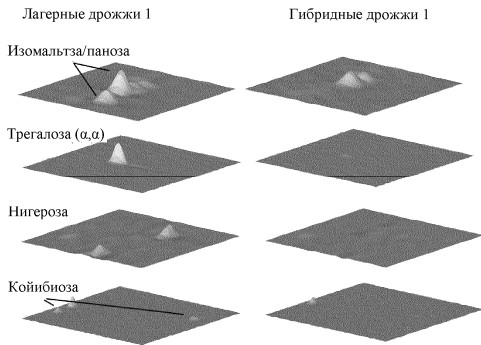
A)



B)



Фиг. 3



Фиг. 4

```

SDALS_Ale_1      MSADASTNSNASLDEKNLNI TSEAEI KNEODTAEPLVSTVLSPNGKI VYI SDKVDEAMKLAEEAEKEI EVTPPEEDRKL RVK  80
norEc_DALS_Lagr_1 MSASASTNSNASLDEKNLNI TSEAEI KNEODTAEPLVSTVLSPNGK VYI SDKVDEAMKLAEEAEKEI EVTPPEEDRKL RVK  80
Sc_DALS_Hybr_1   MSASASTNSNASLDEKNLNI TSEAEI KNEODTAEPLVSTVLSPNGK VYI SDKVDEAMKLAEEAEKEI EVTPPEEDRKL RVK  80

SDALS_Ale_1      I DYCMFPLMCI LLYAVGFMDKI STSSAAVMGLRTDLKMMGGDOYSWTSAPFYGYLPMNLGPVQFI FQRSTSHMSKMLAVFI V  160
norEc_DALS_Lagr_1 I DYCMFPLMCI LLYAVGFMDKI STSSAAVMGLRTDLKMMGGDOYSWTSAPFYGYLPMNLGPVQFI FQRSTSHMSKMLAVFI V  160
Sc_DALS_Hybr_1   I DYCMFPLMCI LLYAVGFMDKI STSSAAVMGLRTDLKMMGGDOYSWTSAPFYGYLPMNLGPVQFI FQRSTSHMSKMLAVFI V  160

SDALS_Ale_1      I VGM L LALHAAPT VKYPSFI VLRVLL GCAESVVT PCFTI I TAQYKTEEQFTRVSI WFGMNLGSI LI NAI AYGVYI HQD  240
norEc_DALS_Lagr_1 I VGM L LALHAAPT VKYPSFI VLRVLL GCAESVVT PCFTI I TAQYKTEEQFTRVSI WFGMNLGSI LI NAI AYGVYI HQD  240
Sc_DALS_Hybr_1   I VGM L LALHAAPT VKYPSFI VLRVLL GCAESVVT PCFTI I TAQYKTEEQFTRVSI WFGMNLGSI LI NAI AYGVYI HQD  240

SDALS_Ale_1      SYAI KQWRTLFVI TGVYI TFI GI LI FLW PDDPSKARFLSKREKLMVQRI RSNQDGFGNHEI KKYQI I EALKDVRTWL Y  320
norEc_DALS_Lagr_1 SYAI KQWRTLFVI TGVYI TFI GI LI FLW PDDPSKARFLSKREKLMVQRI RSNQDGFGNHEI KKYQI I EALKDVRTWL Y  320
Sc_DALS_Hybr_1   SYAI KQWRTLFVI TGVYI TFI GI LI FLW PDDPSKARFLSKREKLMVQRI RSNQDGFGNHEI KKYQI I EALKDVRTWL Y  320

SDALS_Ale_1      FLFTVSSNI PNGSI SFMSI LLNSDFGYSSKETLLMLQPTGAVELVGCPLFGI LAYYAANKKI PFWKYKLSWI FAAVLA  400
norEc_DALS_Lagr_1 FLFTVSSNI PNGSI SFMSI LLNSDFGYSSKETLLMLQPTGAVELVGCPLFGI LAYYAANKKI PFWKYKLSWI FAAVLA  400
Sc_DALS_Hybr_1   FLFTVSSNI PNGSI SFMSI LLNSDFGYSSKETLLMLQPTGAVELVGCPLFGI LAYYAANKKI PFWKYKLSWI FAAVLA  400

SDALS_Ale_1      LI ASCMLGFATNSKKARLAGAVLW I SPVPSFI CVLSNI SANSSGYSKKWVSSI NL YAYAAANLAGQPTFI AKQAPKYHG  480
norEc_DALS_Lagr_1 LI ASCMLGFATNSKKARLAGAVLW I SPVPSFI CVLSNI SANSSGYSKKWVSSI NL YAYAAANLAGQPTFI AKQAPKYHG  480
Sc_DALS_Hybr_1   LI ASCMLGFATNSKKARLAGAVLW I SPVPSFI CVLSNI SANSSGYSKKWVSSI NL YAYAAANLAGQPTFI AKQAPKYHG  480

SDALS_Ale_1      AKVAMVVCYAVM VLLS I LLI VNLRENKRRDKI LAERQFPEETENLFSDLTDFENPNFRYTL  544
norEc_DALS_Lagr_1 AKVAMVVCYAVM VLLS I LLI VNLRENKRRDKI LAERQFPEETENLFSDLTDFENPNFRYTL  544
Sc_DALS_Hybr_1   AKVAMVVCYAVM VLLS I LLI VNLRENKRRDKI LAERQFPEETENLFSDLTDFENPNFRYTL  544
    
```

Фиг. 5

```

Sc_LBR1_Ale_1     FKFEKQVEGGVLI WQRVQSNLTKYSYI SFKQGLTYVETL LSKVHDPI PLRPKEI I SLLTLCKLFGAWKI KRKEGEHV  679
Sc_LBR1_Lagr_1    FKFEKQVEGGVLI WQRVQSNLTKYSYI SFKQGLTYVETL LSKVHDPI PLRPKEI I SLLTLCKLFGAWKI KRKEGEHV  679
Sc_LBR1_Hybr_1    FKFEKQVEGGVLI WQRVQSNLTKYSYI SFKQGLTYVETL LSKVHDPI PLRPKEI I SLLTLCKLFGAWKI KRKEGEHV  679

Sc_LBR1_Ale_1     LHEDQNF I SYLEYTTSI YSI I QTAEKVSEKSDSI DSKLFLNAI RI I SSFLGNRSLTYKLI YDSHEVI KFSVSHERAVFM  759
Sc_LBR1_Lagr_1    LHEDQNF I SYLEYTTSI YSI I QTAEKVSEKSDSI DSKLFLNAI RI I SSFLGNRSLTYKLI YDSHEVI KFSVSHERAVFM  759
Sc_LBR1_Hybr_1    LHEDQNF I SYLEYTTSI YSI I QTAEKVSEKSDSI DSKLFLNAI RI I SSFLGNRSLTYKLI YDSHEVI KFSVSHERAVFM  759

Sc_LBR1_Ale_1     NPLQTM SFLI ERKVELKDAYEALDCCDFLKI SDFSLRVLVCSQI DVGFWRNQMSVLHQAAYYKNNPEL QSYRDI HL  839
Sc_LBR1_Lagr_1    NPLQTM SFLI ERKVELKDAYEALDCCDFLKI SDFSLRVLVCSQI DVGFWRNQMSVLHQAAYYKNNPEL QSYRDI HL  839
Sc_LBR1_Hybr_1    NPLQTM SFLI ERKVELKDAYEALDCCDFLKI SDFSLRVLVCSQI DVGFWRNQMSVLHQAAYYKNNPEL QSYRDI HL  839

Sc_LBR1_Ale_1     NQLAI LWERDDI PRI I YNI LDRWELLDWFTEVDYQHTVYEDI SFI I QQI AFI YQI LTERGYKTFSSLKDRMDQI K  919
Sc_LBR1_Lagr_1    NQLAI LWERDDI PRI I YNI LDRWELLDWFTEVDYQHTVYEDI SFI I QQI AFI YQI LTERGYKTFSSLKDRMDQI K  919
Sc_LBR1_Hybr_1    NQLAI LWERDDI PRI I YNI LDRWELLDWFTEVDYQHTVYEDI SFI I QQI AFI YQI LTERGYKTFSSLKDRMDQI K  919

Sc_LBR1_Ale_1     NSI I YNL YMKPLSYSKLLRSVPDYLTDITDFEAL EEVSVFEPKGLADNGVFKL KASLYAKVDPLKLLNLENEFESS  988
Sc_LBR1_Lagr_1    NSI I YNL YMKPLSYSKLLRSVPDYLTDITDFEAL EEVSVFEPKGLADNGVFKL KASLYAKVDPLKLLNLENEFESS  988
Sc_LBR1_Hybr_1    NSI I YNL YMKPLSYSKLLRSVPDYLTDITDFEAL EEVSVFEPKGLADNGVFKL KASLYAKVDPLKLLNLENEFESS  988
    
```

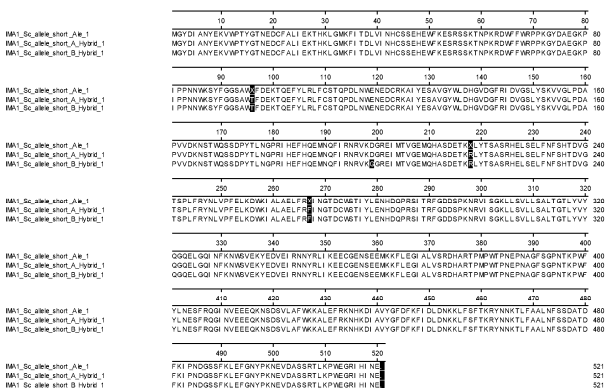
Фиг. 6

```

msftnql gsl kahr rrtl rei hnl pvr fr trogter admralk efi vnyl vfi i snodel stl fta hpkdqz bngel avf prel edal dvgk tsgd 180
msftnql gsl kahr rrtl rei hnl pvr fr trogter admralk efi vnyl vfi i snodel stl fta hpkdqz bngel avf prel edal dvgk tsgd 180
ff fy yki deki idvwhk tgrncgrk ki gepl yrcheccodot cvl cl hcp nprk dnhvict o cseft sqi cdoodee avwssl hcckae eogndt se 200
ff fy yki deki idvwhk tgrncgrk ki gepl yrcheccodot cvl cl hcp nprk dnhvict o cseft sqi cdoodee avwssl hcckae eogndt se 200
dpsnf dstk odk dwdp dci al vel vl sefv dvi dvi hndi epl pti dxi tl kl remt oqokwera qd lnd kyendw dot takt sprnsprae 300
dpsnf dstk odk dwdp dci al vel vl sefv dvi dvi hndi epl pti dxi tl kl remt oqokwera qd lnd kyendw dot takt sprnsprae 300
pslaki dpenyvi i yndeynydattal rogv dnvhi dl tsn dgegram kcsdi svlv gdf favot ngl satl tswey hdeackyi l lw t 400
pslaki dpenyvi i yndeynydattal rogv dnvhi dl tsn dgegram kcsdi svlv gdf favot ngl satl tswey hdeackyi l lw t 400
hlni pnrpqi t rnmwksl cselv natesrdm pvekyv stkf doodp vry dl svla egnid pl ghkvk pseshl stli ndvnl tsekyn 500
hlni pnrpqi t rnmwksl cselv natesrdm pvekyv stkf doodp vry dl svla egnid pl ghkvk pseshl stli ndvnl tsekyn 500
trl qh l yf dnyv wkl rxdj gnv i pt lasstl xpi f oodvvei fmi trsavydrepql ta recvvl ftoct nrti nri fengsfdi lmb i di f 600
trl qh l yf dnyv wkl rxdj gnv i pt lasstl xpi f oodvvei fmi trsavydrepql ta recvvl ftoct nrti nri fengsfdi lmb i di f 600
kefckveavl i wdrvornal tksyl sfxkool yv lll kvndpni ti rpkvti sll tkl gnl fngami krkegvl hdeqfi svl eyttsi ysi i 700
kefckveavl i wdrvornal tksyl sfxkool yv lll kvndpni ti rpkvti sll tkl gnl fngami krkegvl hdeqfi svl eyttsi ysi i 700
qtaekv l exshid dl nl vlnai ri vesfl gnrsl tlyk l ydshie i kfvshervafwpi qml sfl ekvsl kdaves endpdr ki adf lrsvv 800
qtaekv l exshid dl nl vlnai ri vesfl gnrsl tlyk l ydshie i kfvshervafwpi qml sfl ekvsl kdaves endpdr ki adf lrsvv 800
lcsq dvgf wnrnqvl hds vnyk npl gsvrdi hl nqlai i wrodv pvi vni lrdell dwp mseayv qv tyveki sfm oqi afi vqi te 800
lcsq dvgf wnrnqvl hds vnyk npl gsvrdi hl nqlai i wrodv pvi vni lrdell dwp mseayv qv tyveki sfm oqi afi vqi te 800
roqfxt fl lrdmrmk msi mnl ympl slyk l kvdpvl tdot tdebealeevsv epk l adnqf kaal yai dpl kll enefessat 1000
roqfxt fl lrdmrmk msi mnl ympl slyk l kvdpvl tdot tdebealeevsv epk l adnqf kaal yai dpl kll enefessat 1000
i i ktl akndevskvli pvdtkl dksaml def rntv fkvk l qvcl dmed stl nell hl vhoi fadeli mkozi peyal kpi cnll 1100
i i ktl akndevskvli pvdtkl dksaml def rntv fkvk l qvcl dmed stl nell hl vhoi fadeli mkozi peyal kpi cnll 1100
si anaxsi f sesv yrkdv l lkm mkpdr f eeli asf onvni dnyvkl dsovl de terek rrmk hqarl lakf nqgskf mkehesed 1200
si anaxsi f sesv yrkdv l lkm mkpdr f eeli asf onvni dnyvkl dsovl de terek rrmk hqarl lakf nqgskf mkehesed 1200
qndvmdgekve sedf t cal cdbssst off vi payhnti ri frpni f nprep mknvdf ynddkgay i dbev lsl kengt rbrkvf vscnhi h 1300
qndvmdgekve sedf t cal cdbssst off vi payhnti ri frpni f nprep mknvdf ynddkgay i dbev lsl kengt rbrkvf vscnhi h 1300
hncfkrv dcorf sbaf cpl cofc fncpl dnf rntatnl sb dmf ksel bl dl lrlr kpf fedvnti nri felwscdof dvrk hnf tk 1600
hncfkrv dcorf sbaf cpl cofc fncpl dnf rntatnl sb dmf ksel bl dl lrlr kpf fedvnti nri felwscdof dvrk hnf tk 1600
dsvl vlvh wnti sm evas rlekpni sff rredqytk lni li ci m f tvi oqps m f p p p p p i c n v g l f o y i vrk s l f p a s l r e t i e 1500
dsvl vlvh wnti sm evas rlekpni sff rredqytk lni li ci m f tvi oqps m f p p p p p i c n v g l f o y i vrk s l f p a s l r e t i e 1500
al tvv oqpl ddf vgs sda evdki ytkk dnyvndi li l lms tvvkt l o l e s r i y o l a y t s l k s l p t i r r l v m k k h e l k v d e n e t 1600
al tvv oqpl ddf vgs sda evdki ytkk dnyvndi li l lms tvvkt l o l e s r i y o l a y t s l k s l p t i r r l v m k k h e l k v d e n e t 1600
mvi dqv dveel efg pof vdxal ki l tkesf vol fkt gmi vphsv leri pvevci vki dl skf ntv yv oqke kl reers qh mkn dnl dl f 1700
mvi dqv dveel efg pof vdxal ki l tkesf vol fkt gmi vphsv leri pvevci vki dl skf ntv yv oqke kl reers qh mkn dnl dl f 1700
ki cl tcdzvhl radmeh kh kknv f e s f g a l m n s e v c l h t o p s n i f v s a p y n d h g v d n a m r d o t t l n k r y h l n r l w n n e i p o y i 1800
ki cl tcdzvhl radmeh kh kknv f e s f g a l m n s e v c l h t o p s n i f v s a p y n d h g v d n a m r d o t t l n k r y h l n r l w n n e i p o y i 1800
srvmode frv ti lms fl f a f n r e p r p r v p t d e d o s e m e o g e o f f t e e n d m d v o d e t o g a n l f o v a e i o o o o v r n f f o f e n f r n t i o p o n d 1900
srvmode frv ti lms fl f a f n r e p r p r v p t d e d o s e m e o g e o f f t e e n d m d v o d e t o g a n l f o v a e i o o o o v r n f f o f e n f r n t i o p o n d 1900
dekapnppp l of opof ddat i rntnorm de dossen dore i 1980
dekapnppp l of opof ddat i rntnorm de dossen dore i 1980

```

Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9A

Multiple sequence alignment of protein domains, showing conserved regions across various sequences. The alignment is presented in a standard format with sequence identifiers on the left and amino acid residues on the right.

Фиг. 11В

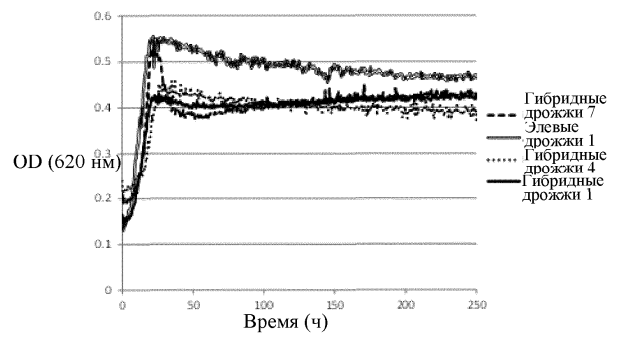
Non-Sec_AGT_Layer1 MKNI LSLVGRKENTPVDYANLADTSSTVMQAKDLVDFEERKKNDAFELNHELETTNATQLSDSDSEKENVIVAEAL 80
Non-Sec_AGT_Layer2 MKNI LSLVGRKENTPVDYANLADTSSTVMQAKDLVDFEERKKNDAFELNHELETTNATQLSDSDSEKENVIVAEAL 80
Non-Sec_AGT_Layer3 TDANEANNEKSMTLRQALRKYPKAAALWBLVSTLTVMEGYDTALLSALYALPVQRFKTFMNAESGYEITSQWQI GLN 160
Non-Sec_AGT_Layer4 TDANEANNEKSMTLRQALRKYPKAAALWBLVSTLTVMEGYDTALLSALYALPVQRFKTFMNAESGYEITSQWQI GLN 160
Non-Sec_AGT_Layer5 MCVLCGEMI GLQITTYMEFMGNRYTMTALSLLTAYIFI LYCKSLAMI AVGQI L SAMPWGCDFQSLAVTYASEVCPCLAL 240
Non-Sec_AGT_Layer6 MCVLCGEMI GLQITTYMEFMGNRYTMTALSLLTAYIFI LYCKSLAMI AVGQI L SAMPWGCDFQSLAVTYASEVCPCLAL 240
Non-Sec_AGT_Layer7 RYMYTSEYNI CMLFGQI FASGI MKNSGENLGNLSDGYKLPFALQW VPAPLI I GI FFAPESPWLVRKNI VEAKSLNR 320
Non-Sec_AGT_Layer8 RYMYTSEYNI CMLFGQI FASGI MKNSGENLGNLSDGYKLPFALQW VPAPLI I GI FFAPESPWLVRKNI VEAKSLNR 320
Non-Sec_AGT_Layer9 ILSGTVEKEI QVDI TLKQI EMTI EKERLRAKSSGSFSGFKQVDGRRTRACLTVWAQNSGAVLLGYSTVFPERAGMA 400
Non-Sec_AGT_Layer10 ILSGTVEKEI QVDI TLKQI EMTI EKERLRAKSSGSFSGFKQVDGRRTRACLTVWAQNSGAVLLGYSTVFPERAGMA 400
Non-Sec_AGT_Layer11 TDKAFYFSLI QVCLGLAGLGSWV SGRVGRWTI LTVSL SFOVWCLFI I GGMSPFAGSSASNAAGLLALL SFFYNAI G 480
Non-Sec_AGT_Layer12 TDKAFYFSLI QVCLGLAGLGSWV SGRVGRWTI LTVSL SFOVWCLFI I GGMSPFAGSSASNAAGLLALL SFFYNAI G 480
Non-Sec_AGT_Layer13 AVVYCI VAEI PSALRTKTI VLARI CYNLMAVFNALI LTPYMLNVDWNSMAGKTLGYWSGFALTALWAMI I DLPEITGRTF 560
Non-Sec_AGT_Layer14 AVVYCI VAEI PSALRTKTI VLARI CYNLMAVFNALI LTPYMLNVDWNSMAGKTLGYWSGFALTALWAMI I DLPEITGRTF 560
Non-Sec_AGT_Layer15 SEI NELLFSDGVQVQVAVSTVDFQVQKRLQNRQVDNI I DRFSSASQAL 610
Non-Sec_AGT_Layer16 SEI NELLFSDGVQVQVAVSTVDFQVQKRLQNRQVDNI I DRFSSASQAL 610

Conservation: * Shade (with solid black) residues that differ from the Consensus.

Фиг. 12А

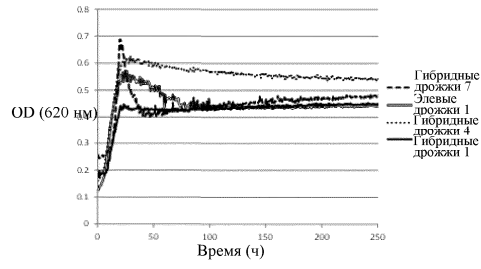
Multiple sequence alignment of protein domains, similar to Figure 11B, showing conserved regions across various sequences. The alignment is presented in a standard format with sequence identifiers on the left and amino acid residues on the right.

Фиг. 12В

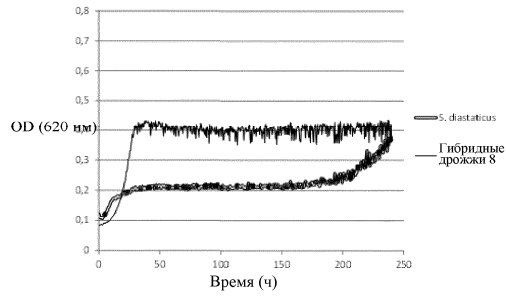


Фиг. 13

А)

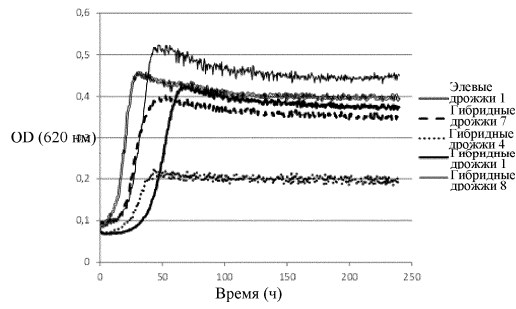


В)

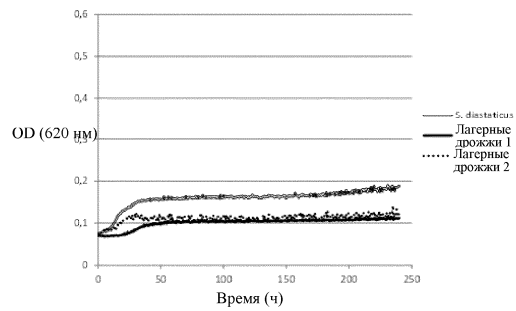


Фиг. 14

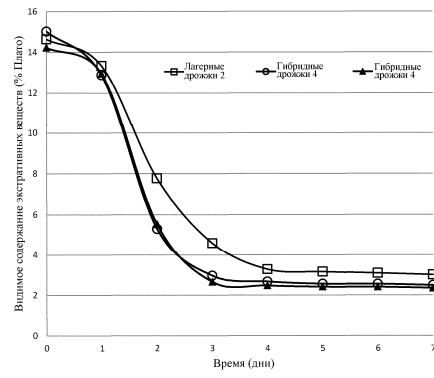
А)



В)



Фиг. 15



Фиг. 16

