



ISSN 0579-3009

ИЗВЕСТИЯ ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЙ

ПИЩЕВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ



Food Tehnology

НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ
СБОРНИК
4'2020
ВСЕРОССИЙСКИЙ
ИНСТИТУТ ТЕХНОЛОГИЙ

Журнал включен в перечень изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертационных исследований, входит в базы данных научного цитирования: РИНЦ, AGRIS, Ulrichsweb, ProQuest и Russian Science Citation Index (RSCI), размещен в качестве отдельного индекса на платформе Web of Science

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

ЛОБАНОВ В.Г. – доктор технических наук, профессор, президент Кубанского государственного технологического университета, заслуженный работник высшей школы РФ, заслуженный работник высшей школы Республики Адыгея, заслуженный деятель науки Кубани

Заместители главного редактора

РОСЛЯКОВ Ю.Ф. – доктор технических наук, профессор, профессор Кубанского государственного технологического университета, заслуженный изобретатель РФ, заслуженный деятель науки Кубани

КАЛМАНОВИЧ С.А. – доктор технических наук, профессор, заведующая кафедрой технологии жиров, косметики, товароведения, процессов и аппаратов Кубанского государственного технологического университета, заслуженный работник высшей школы РФ, заслуженный деятель науки Республики Адыгея, заслуженный деятель науки Кубани

Члены редколлегии

АНТИПОВА Л.В. – доктор технических наук, профессор, профессор Воронежского государственного университета инженерных технологий, заслуженный деятель науки РФ

БАРЫШЕВ М.Г. – доктор биологических наук, профессор, врио ректора Кубанского государственного технологического университета, профессор Российской академии наук

ДИЛЬ БЕРНД – доктор химических наук, директор «Spectral Service AG» (г. Кельн, Федеративная Республика Германия)

ДОНЧЕНКО Л.В. – доктор технических наук, профессор, директор НИИ биотехнологии и сертификации пищевой продукции Кубанского государственного аграрного университета имени И.Т. Трубилина, заслуженный деятель науки Кубани

ЕГОРОВ Е.А. – доктор экономических наук, профессор, советник Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия, академик Российской академии наук, заслуженный работник сельского хозяйства РФ

КРЪСТЕВА А.П. – доктор-инженер, профессор, профессор Пловдивского университета пищевых технологий (г. Пловдив, Республика Болгария)

ЛОВКИС З.В. – доктор технических наук, профессор, генеральный директор Научно-практического центра Национальной академии наук Беларуси по продовольствию, заслуженный деятель науки РБ (г. Минск, Республика Беларусь)

МЕЗЕНОВА О.Я. – доктор технических наук, профессор, заведующая кафедрой пищевой биотехнологии Калининградского государственного технологического университета

МУКАТОВА М.Д. – доктор технических наук, профессор, профессор Астраханского государственного технического университета, заслуженный работник рыбной промышленности РФ

НАДЫКТА В.Д. – доктор технических наук, профессор, профессор Кубанского государственного аграрного университета имени И.Т. Трубилина, академик Российской академии наук, заслуженный деятель науки Кубани

НАЗАРЬКО М.Д. – доктор биологических наук, профессор, профессор Кубанского государственного технологического университета

НЕЧАЕВ А.П. – доктор технических наук, профессор, профессор Московского государственного университета пищевых производств, заслуженный деятель науки и техники РФ

ОСТРИКОВ А.Н. – доктор технических наук, профессор, профессор Воронежского государственного университета инженерных технологий, заслуженный деятель науки РФ

ПРОСЕКОВ А.Ю. – доктор технических наук, профессор, ректор Кемеровского государственного университета, член-корреспондент Российской академии наук, главный редактор журналов «Food Processing: Techniques and Technology» и «Foods and Raw Materials» (индексируется Web of Science и Scopus)

ПРОХОРОВА В.В. – доктор экономических наук, профессор, заведующая кафедрой отраслевого и проектного менеджмента Кубанского государственного технологического университета, заслуженный экономист Кубани

СЕМЕНОВ Г.В. – доктор технических наук, профессор, профессор Московского государственного университета пищевых производств

ХРАМЦОВ А.Г. – доктор технических наук, профессор, профессор Северо-Кавказского федерального университета, академик Российской академии наук, заслуженный деятель науки РФ

ШАЗЗО А.Ю. – доктор технических наук, профессор, директор Института пищевой и перерабатывающей промышленности Кубанского государственного технологического университета, заслуженный деятель науки Республики Адыгея, заслуженный деятель науки Кубани

ЩЕПАКИН М.Б. – доктор экономических наук, профессор, заведующий кафедрой маркетинга и бизнес-коммуникаций Кубанского государственного технологического университета, заслуженный работник высшей школы РФ, заслуженный деятель науки Кубани

Рослякова Е.Ю. – ответственный секретарь, кандидат технических наук

Росляков Ю.Ф. – редактор-консультант, доктор технических наук, профессор

Редакторы: **Рубцова М.В., Маркосова И.С., Цыповяз Е.В.**

Компьютерная верстка: **Марковский М.Г.**

Всем статьям, опубликованным в журнале, присваивается международный цифровой идентификатор DOI.

Журнал «Известия вузов. Пищевая технология» издается с 1957 г. Учредитель издания: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный технологический университет». Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

(свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС77-71962 от 26 декабря 2017 г.).

Адрес редакции и издателя: Российская Федерация, 350072, г. Краснодар, ул. Московская, 2, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный технологический университет» (ФГБОУ ВО «КубГТУ»). Тел.: (861) 275-89-88; <http://ivpt.ru>

9. Zobkova Z.S., Fursova T.P., Zenina D.V., Gavrilina A.D., Shelaginova I.R., *Molochnaya promyshlennost*, 2017, no. 2, pp. 50–52.
10. Donskaya G.A., Shehekochikhina A.S., Drozhzhin V.M., *Molochnaya promyshlennost*, 2019, no. 11, pp. 43–44.
11. Asledottir T., Le T., Petrat-Melin B., Devold T., Larsen L., Vegarud G., *International Dairy Journal*, 2017, no. 71, pp. 98–106.
12. Bruno J., Nicolas A., Pesenti S., Schwarz J., Simon J.-L., Leonil J., Plaisancie P., *Journal of Dairy Science*, 2017, vol. 100, no. 5, pp. 3360–3372.
13. Petrat-Melin B., Le T., Moller H., Larsen L., Young J., *Journal of Dairy Science*, 2016, vol. 100, no. 2, pp. 881–885.
14. Martinez-Augustin O., Rivero-Gutierrez B., Mascaraque C., Medina F., *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, no. 15, pp. 22857–22873.
15. Li-Chan E., *Current Opinion in Food Science*, 2015, no. 1, pp. 28–37.
16. Nongonierma A., Dellafiora L., Paoletta S., Galaverna G., Cozzini P., Fitzgerald R., *Frontiers in Endocrinology*, 2018, vol. 9, <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00329>.
17. Nongonierma A., Fitzgerald R., *Trends in Food Science and Technology*, 2016, vol. 50, pp. 26–43.
18. Guo H., Richel A., Hao Y., Fan X., Everaert N., Yang X., Ren G., *Food Science and Nutrition*, 2020, DOI: 10.1002/fsn3.1423.
19. Valdes A., Cifuentes A., Leon C., *Trends in Analytical Chemistry*, 2017, vol. 96, pp. 2–13.
20. Agyei D., Ongkudon C., Wei C., Chan A., Danquah M., *Food and Bioprocess Technology*, 2016, vol. 98, pp. 244–256.
21. Ji C., Han J., Zhang J., Hu J., Fu Y., Qi H., Sun Y., Yu C., *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, vol. 98, pp. 984–990.
22. Minkiewicz P., Dziuba J., Iwaniak A., Dziuba M., Darewicz M., *Journal of AOAC International*, 2008, vol. 91, pp. 965–980.
23. Tu M., Feng L., Wang Z., Qiao M., Shahidi F., Lu W., Du M., *Journal of Functional Foods*, 2017, vol. 32, pp. 313–323.
24. Lin K., Zhang L., Han X., Cheng D., *Journal of Functional Foods*, 2017, vol. 32, pp. 266–277.
25. Nongonierma A., Fitzgerald R., *Royal Society of Chemistry, Advances*, 2016, vol. 6, pp. 75400–75413.
26. Sun H., Chang Q., Liu L., Chai K., Lin G., Huo Q., Zhao Zhenxia, Zhao Zhongxing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, DOI: 10.1021/acs.jafc.7b04043.
27. Valdes A., Cifuentes A., Leon C., *Trends in Analytical Chemistry*, 2017, vol. 96, pp. 2–13.
28. Vijayakumar V., Guerrero A., Davey N., Lebrilla C., Shields D., Khaldi N., *Journal of Proteome Research*, 2012, vol. 11, pp. 6056–6065.
29. Dupont D., *Current Opinion in Food Science*, 2017, vol. 16, pp. 53–58.
30. Ibanez C., Simo C., Garcia-Canas V., Cifuentes A., Castro-Puyana M., *Analytica Chimica Acta*, 2013, vol. 802, pp. 1–13.

Поступила 27.07.20 г.

PERSPECTIVES OF BIOINFORMATICS FOR RESEARCHING FOOD BIOACTIVE PEPTIDES USING IN SILICO INSTRUMENTS

K.A. RYAZANTSEVA, E.YU. AGARKOVA

All-Russian Dairy Research Institute,

35, bld 7, Lyusinovskaya st., Moscow, Russian Federation, 115093; e-mail: e_agarkova@vniimi.org

The article describes the main classical approaches to the production of biologically active peptides and methods for their identification. It has been shown that the traditionally used methods of obtaining and analyzing bioactive peptides (BP) are not only very costly, but also require a significant amount of time, which limits detailed research and rapid development of BP. New bioinformatic approaches *in silico* used for identification, characterization, development of bioactive mechanisms and production of BP from food proteins can simplify the production and study of biologically active peptides, which will speed up the development of functional products using BP.

Key words: bioinformatics, bioactive peptides, proteomics, functional products.

DOI 10.26297/0579-3009.2020.4.3

УДК 637.12.04/07

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МОДИФИКАЦИИ К-КАЗЕИНА

А.Г. КРУЧИНИН, С.Н. ТУРОВСКАЯ, Е.Е. ИЛЛАРИОНОВА, А.В. БИГАЕВА

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности,

115093, Российская Федерация, г. Москва, ул. Люсиновская, 35, корп. 7; электронная почта: a_kruchinin@vniimi.org

Дан анализ фракционного состава, и приведены основные модели молекулярной структуры мицелл казеина. Казеины являются фосфопротеинами и представляют коллоидный мицеллярный комплекс с фосфатом кальция и небольшим количеством других минералов. Внутренняя молекулярная структура мицелл казеина до конца не изучена, однако многие ученые согласны с моделью строения, в которой гидрофильная С-концевая часть к-казеина находится на поверхности мицеллы, что обеспечивает стерическое и электростатическое отталкивание и предотвращает агрегацию мицелл. Фракция к-казеина обладает широким полиморфизмом, однако на сегодняшний день наиболее распространенными являются аллельные варианты А и В, отличающиеся заменой аминокислот Thr¹⁵⁷ > Ile в аллельном варианте В. Данная генетическая модификация теряет один гликозидный центр, в результате чего повышается сыропригодность молока, но снижается его термоустойчивость. Молоко, несущее аллельный вариант В по гену CSN3, характеризуется более высоким содержанием белка, а аллельный вариант А влияет на увеличение надоев. Исследование взаимосвязи структуры мицелл казеина, полиморфных вариантов генов казеина и технологических свойств позволяет проводить селекцию коров для получения молока с требуемыми технологическими свойствами.

Ключевые слова: мицелла казеина, κ -казеин, генотип, аминокислотная последовательность, технологические свойства, сыропригодность, термоустойчивость.

С научной точки зрения молоко представляет сложную многокомпонентную биофизиологическую систему, в которой все составные части – жиры, белки, лактоза, минеральные вещества, витамины, гормоны, газы и другие биологически активные соединения находятся в тонкодисперсном состоянии [1–4].

Содержание основных компонентов в молоке непостоянно и может изменяться под действием паратипических – рацион кормления, условия содержания, период лактации, возраст животного и генетических факторов, от которых зависят органолептические, физико-химические, микробиологические показатели, а также основные технологические свойства молока – сыропригодность, скорость сычужной коагуляции белка и термоустойчивость, оказывающие влияние на качество и выход молочных продуктов [5, 6].

Строение молочных белков, их роль в формировании определенных технологических свойств, характерных для каждой группы молочных продуктов, рассмотрены в [7, 8].

В молоке белки присутствуют в виде высокомолекулярных соединений, состоящих в основном из α -аминокислот, поочередно соединенных между собой специфической пептидной связью. В результате применения современных методик выделения и идентификации белковых веществ авторами [9] охарактеризованы три основные группы протеинов молока: казеины (80%), сывороточные белки (19%) и белки оболочек жировых шариков (около 1%).

Группа казеиновых белков в коровьем молоке представлена в виде фракций α_{S1} -казеина (40–45%), α_{S2} -казеина (10–12%), β -казеина (35–40%), κ -казеина (8–15%) и незначительных количеств фрагментов β -казеина [9, 10].

α_{S1} -Казеин (CSN1S1) – основной белок казеинового комплекса с молекулярной массой 23,6 кДа и изоэлектрической точкой в диапазоне pH 4,4–4,7. α_{S1} -Казеин состоит из 199 аминокислотных остатков, а. о., и 8–10 серилфосфатных групп. В аминокислотной последовательности α_{S1} -казеина присутствует значительное количество неполярных а. о., что характеризует гидрофобные свойства данной фракции. Полиморфизм гена α_{S2} -казеина насчитывает 5 генетических модификаций, A, B, C, D и E. В составе белковой фракции α_{S1} -казеина отмечается повышенное содержание аспарагиновой кислоты, лизина и тирозина при полном отсутствии цистеина. α_{S1} -Казеин является кальций-чувствительной фракцией, способной к образованию агрегатов при воздействии ионов кальция [9, 11].

α_{S2} -Казеин (CSN1S2) – белковая фракция с молекулярной массой 25,2 кДа. В аминокислотном составе α_{S2} -казеина 207 а. о., в том числе два остатка цистеина. Генетические изменения белковой фракции α_{S2} -казеина насчитывают 4 модификации, содержащие от 10 до 13 серилфосфатных групп. Благодаря высокому со-

держанию серилфосфатных групп α_{S2} -казеин считается самой кальций-чувствительной фракцией [7, 11].

β -Казеин (CSN2) представляет кислую белковую фракцию с молекулярной массой 24,0 кДа и изоэлектрической точкой в диапазоне pH 4,8–5,1. β -Казеин состоит из 209 а. о. Существует 12 генетических вариантов β -казеина – A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I, из них наиболее часто встречаемыми и хорошо охарактеризованными являются варианты A1 и A2. β -Казеин имеет четкое распределение заряженных групп. N-Концевая часть аминокислотной последовательности высоко гидрофильна, имеет пять фосфосерильных остатков, которые образуют анионный фосфосерильный кластер и несут большую часть чистого отрицательного заряда при нейтральном pH. C-Концевая часть в основном состоит из нейтральных и гидрофобных аминокислот с высоким содержанием остатков пролина. β -Казеин имеет гибкую линейную структуру и не образует внутренних ковалентных связей и перекрестных сшивок. Благодаря такой молекулярной структуре β -казеин является поверхностно-активным белком, стабилизирующим водные каналы в мицелле казеина. β -Казеин существенно влияет на целостность мицелл.

На растворимость β -казеина влияет температура молока t . При t ниже 4°C растворимость β -казеина повышается, вследствие чего снижается его чувствительность к ионам кальция. Продолжительное хранение молока при низких температурах приводит к частичной диссоциации β -казеина из мицеллы казеина в плазму. Фракция β -казеина склонна к частичному протеолиту под действием плазмينا. В результате протеолиза образуются фракции с более низкой молекулярной массой, γ -казеин и протеозо-пептоны. Повышение t от 37°C увеличивает чувствительность β -казеина к ионам кальция. Кальций связывается с присутствующими фосфосерильными остатками в β -казеине, что приводит к уменьшению электростатического отталкивания между молекулами и к образованию агрегатов β -казеина [9, 12].

κ -Казеин (CSN3) – белковая фракция с молекулярной массой 19,1 кДа и изоэлектрической точкой в диапазоне pH 5,4–5,7; состоит из 169 а. о. с наличием двух остатков цистеина. В κ -казеине присутствует только одна серилфосфатная группа, что снижает реакционную способность данной фракции к осаждению под действием ионов кальция. Полиморфизм κ -казеина насчитывает около 9 генетических вариаций. κ -Казеин обладает хорошей растворимостью за счет содержания гликолизированных компонентов, таких как N-ацетилгалактозамин, галактоза и сиаловая кислота [9]. Гликолизированный участок κ -казеина содержит большое количество серина, треонина и глутаминовой кислоты, что обеспечивает общий отрицательный заряд. Располагаясь на периферии мицеллы, фракция κ -казеина выполняет защитную роль по отношению к кальций-чув-

ствительным α_s - и β -фракциям. Кроме того, поверхностное нахождение к-казеина обеспечивает стерическое и электростатическое отталкивание между мицеллами, тем самым предотвращая их агрегацию. к-Казеин не подвержен протеолизу плазмином. Однако аминокислотная последовательность к-казеина имеет чувствительную к гидролизу химозином пептидную связь между Phe¹²⁶ и Met¹²⁷ (нумерация а. к. указана с учетом наличия в составе N-концевой сигнальной последовательности 1–21 а. к.). Конечными продуктами гидролиза к-казеина являются гидрофильный гликомакропептид, переходящий в сыворотку при обработке белкового сгустка, и гидрофобный пара-к-казеин [9, 13].

В основу технологии производства сычужных сыров заложен ряд специфических взаимосвязанных реакций, характерных для каждой конкретной фракции казеина. Так, гидролиз к-казеина, находящегося на поверхности мицелл, приводит к снижению отрицательного заряда мицеллы казеина с последующей дестабилизацией и вовлечением в процесс коагуляции кальций-чувствительных α_s - и β -фракций [7].

Казеины являются фосфопротеинами и находятся в молоке в тесно связанном состоянии, образуя коллоидный мицеллярный комплекс с фосфатом кальция и небольшим количеством других минералов [12]. Чтобы понять и рационализировать изменения технологических свойств и стабильности молока, необходимо иметь представление о молекулярной структуре мицелл казеина. Детальная структура мицеллы казеина окончательно не установлена. Имеется около десятка моделей молекулярной структуры мицелл казеина. Основные модели представлены на рис. 1 (цветная вкладка, 1): а – электронная микрофотография мицеллы казеина (масштабная линейка 200 нм [14]); б – субмицеллярная модель структуры мицеллы казеина: 1 – субмицелла казеина, 2 – к-казеин, 3 – коллоидный фосфат кальция; в – модель двойного связывания; г – нанокластерная модель поперечного сечения мицеллы казеина.

Исследования снимков, полученных с помощью электронной микроскопии мицелл казеина, показали, что структура казеина собрана из более мелких субъединиц. Полученные данные стали основой для разработки субмицеллярной модели строения мицелл казеина [14]. Впоследствии было выдвинуто предположение, что субмицеллярные модели казеиновых белков гидрофобно агрегированы с образованием субмицеллярных единиц (цветная вкладка, 1, рис. 1, б). Субмицеллярные единицы должны быть связаны с коллоидным фосфатом кальция через серин-фосфатные кластеры на поверхности субмицелл, чтобы сформировать казеиновую мицеллу. В данной модели местоположение к-казеина определено на поверхности мицелл [15].

Позже появилась новая модель строения мицелл казеина – двойного связывания (цветная вкладка, 1, рис. 1, в), основанная на балансе гидрофобных взаимодействий и электростатического отталкивания между фракциями казеина и коллоидного фосфата кальция.

Модель учитывает влияние факторов температуры, pH, ионной силы, мицеллярных диссоциирующих агентов и растворителей на целостность мицелл с точки зрения их воздействия на гидрофобный и электростатический баланс сил. Однако эта модель двойного связывания мицеллы не дает подробного описания поверхности или внутренней структуры мицеллы казеина [16].

В некоторых работах модель мицеллы рассматривается как сеть несферических первичных частиц казеина, состоящих из четырех молекул α_{s1} -казеина и β -казеина и одной молекулы α_{s2} -казеина. Ассоциация в трехмерную сеть происходит за счет сшивания частиц через кальцийфосфатные центры [17].

Несмотря на кардинальные различия молекулярной структуры мицеллы казеина в описанных моделях, все авторы сходятся во мнении, что гидрофобные взаимодействия и коллоидный фосфат кальция важны для поддержания целостности мицелл. Следовательно, целостность мицелл может быть модифицирована или разрушена путем нарушения гидрофобных взаимодействий или растворения коллоидного фосфата кальция. Во всех последних моделях к-казеин имеет преимущественное расположение на поверхности, причем C-концевая область выступает из поверхностного слоя в виде гибкого волоска. Эти модели мицелл казеина с поверхностными слоями к-казеина и внутренней структурой, поддерживаемой гидрофобными взаимодействиями и коллоидным фосфатом кальция, были использованы для объяснения стабильности мицелл и их дестабилизации сычужными ферментами, подкислением или добавлением растворов этилового спирта [7, 9, 16].

В процессе термообработки к-казеин становится связан не только с α_{s2} -казеином, но и с белками молочной сыворотки через дисульфидную связь, что увеличивает поверхность мицеллы и, следовательно, изменяет технологические свойства молока [8].

Поскольку к-казеин играет решающую роль в образовании стабильных мицелл казеина и оказывает ключевое влияние на свойства свертывания, он чаще всего становится предметом тщательного изучения в молоке большинства жвачных животных.

Полная кодирующая последовательность гена CSN3 имеет длину 573 п. н., кодирующий пептид состоит из 190 а. о., среди которых а. о. в положении 1–21 а. к. образуют сигнальный пептид (цветная вкладка, 1, рис. 2). Варианты гена CSN3 широко изучались на протяжении десятилетий. На сегодняшний день известно более девяти его вариантов [18]. Аминокислотные позиции и различия в генетических вариантах CSN3 представлены в таблице.

Несмотря на высокий полиморфизм гена, наиболее распространенными вариантами CSN3 являются аллели А и В. Разница между вариантами А и В возникает в результате двух мутаций одного основания в гене CSN3, что приводит к замене двух аминокислот Thr¹⁵⁷→Ile и Asp¹⁶⁹→Ala. Согласно результатам последних исследований, аллельный вариант В по гену CSN3

Таблица

Аллельный вариант	Аминокислотная позиция и различия						
	31	118	125	156	157	169	176
A	Arg	Arg	Ser	Thr	Thr	Asp	Ser
B	—	—	—	—	Ile	Ala	—
C	—	His	—	—	Ile	Ala	—
E	—	—	—	—	—	—	Gly
F	His	—	—	—	—	—	—
G	—	Cys	—	—	—	—	—
H	—	—	—	Ile	—	—	—
I	—	—	Ala	—	—	—	—
J	—	—	—	—	Ile	Ala	Arg

связан с увеличением массовой доли белка в молоке и способен оказывать положительное влияние на сыропригодность молока, продолжительность сычужного свертывания, выход сыра и творога. Аллельный вариант A по гену CSN3 способствует тенденции к увеличению надоев молока, повышению термоустойчивости молочного белка, однако при этом снижается общее содержание белка, белок коагулирует дольше и образует более слабые гели. Кроме того, появление варианта E по CSN3 было связано с плохим и некоагулирующим молоком. Информация о влиянии других аллельных вариантов CSN3 на сычужную коагуляцию не имеет устойчивой тенденции [19].

Посттрансляционная модификация к-казеина включает O-гликозилирование и фосфорилирование, которые играют важную роль в его биологической функции. Аминокислотный участок к-казеина (генотип AA) с 21–126 а. к. на N-конце является гидрофобным, в то время как участок с 127–190 а. к. на C-конце является гидрофильным и будет высвобождаться в виде макропептида в сыворотку после гидролиза к-казеина химозинном во время производства сыра. Исследования показали, что O-гликозилирование происходит в основном на треонине и серине макропептида, что влияет на растворимость и биологическую активность макропептида и тесно связано с размером мицелл казеина [18]. Размер мицелл казеина оказывает непосредственное влияние на характеристики переработки молока. Путем компьютерного биомоделирования в зрелом пептиде идентифицировано 13 сайтов O-гликозилирования и 19 сайтов фосфорилирования (цветная вкладка, рис. II) [19].

На рис. 2 представлена аминокислотная последовательность к-казеина аллеля A (выделено цветом): 1–21 – N-концевая сигнальная последовательность; T – распознанные сайты O-гликозилирования; S – распознанные сайты фосфорилирования; ST/TS – распознанные сайты фосфорилирования и O-гликозилирования; FM – гидролизующая химозинной связью. Отличительные аминокислотные замены в аллельном варианте B показаны над основной аминокислотной последовательностью.

Результаты этого исследования показали, что сайты O-гликозилирования к-казеина, несущего аллельный вариант A, были в основном локализованы на треонине и серине макропептида, что соответствует результатам

международных исследований для крупного рогатого скота. Фосфорилирование к-казеина играет важную роль в формировании и стабилизации мицеллы казеина. Выявлены различия в количестве и типах сайтов гликозилирования и фосфорилирования к-казеина между аллельными вариантами A и B. Высказано предположение, что конформационные изменения, возникающие в результате замены аминокислот Thr¹⁵⁷→Ile в аллельном варианте B отрицательно влияют на гликозилирование, что приводит к уменьшению размера мицелл казеина. Вероятно, эта же замена сайтов гликозилирования и фосфорилирования негативно влияет на термоустойчивость к-казеина с аллельным вариантом A и всей белковой мицеллы в целом [20, 21].

Таким образом, исследование совокупного влияния генетического полиморфизма основных фракций казеина, тесно связанных в единую белковую матрицу, является перспективным направлением селекции пород крупного рогатого скота с повышенными качественными характеристиками (жир, белок) молока и высокими удойными показателями. Однако для технологической переработки молока интерес представляет влияние полиморфных вариантов к-казеина на термоустойчивость и сыропригодность сырья, что обусловлено полученными данными о местоположении к-казеина в молекулярной структуре мицеллы казеина, в результате чего выявлено его влияние на стабилизацию и дестабилизацию мицелл казеина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тутельян В.А., Герасименко Н.Ф., Никитюк Д.Б., Погожева А.В. Оптимальное питание – основа здорового образа жизни / Здоровье молодежи: новые вызовы и перспективы: монография в 5 т. Т. 3. Воронеж: Научная книга, 2019. С. 228–249.
2. Кисломолочные продукты как составляющая функционального питания / З.С. Зобкова, Т.П. Фурсова, Д.В. Зенина, А.Д. Гаврилина, И.Р. Шелагинова // Молочная промышленность. 2019. № 2. С. 44.
3. Юрова Е.А., Мельденберг Д.Н., Семенова Е.С., Жижин Н.А. Оценка идентификационных характеристик молока-сырья и его пригодности к хранению // Контроль качества продукции. 2018. № 1. С. 17–22.
4. Агаркова Е.Ю., Пряничникова Н.С. Применение пектинов в производстве молочного напитка на основе гидролизатов сывороточных белков // Перспективные аграрные и пищевые инновации: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. Волгоград, 6–7 июня 2019. Волгоград: ООО «Сфера», 2019. С. 297–301.
5. Мельденберг Д.Н., Юрова Е.А. Изменение белкового состава коровьего, козьего и овечьего молока в процессе хранения // Пищевые системы: теория, методология, практика: Сб. науч. тр. XI Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов отделения с.-х. наук Рос. акад. наук, Москва, 1 нояб. 2017 г. М.: Изд-во ВНИХИ РАН, 2017. С. 211.
6. Влияние полиморфных вариантов гена CSN3 на технологические свойства молока / А.В. Бигасва, А.Г. Кручинин, И.А. Радаева, Х.Х. Гильманов, Е.Е. Илларионова // Молочная промышленность. 2020. № 4. С. 54–55.
7. Lucey J. Formation, structural properties, and rheology of acid-coagulated milk gels // Cheese. 2017. P. 179–197.
8. The influence of CSN3 and LGB polymorphisms on milk production and chemical composition in romanian simmental cattle / R. Neamt, G. Saplaan, S. Acatincal, L. Csiszter, D. Gavojdian, D. Ilie // Acta Biochimica Polonica. 2017. Vol. 64. № 3. P. 493–497. DOI:10.18388/abp.2016.1454.
9. Остроумова Т.А. Химия и физика молока. Кемерово, 2004. 196 с.

10. Genome-wide association study for milk protein composition traits in a Chinese Holstein population using a single-step approach / C. Zhou, C. Li, W. Cai, S. Liu, H. Yin, Sh. Shi, Q. Zhang, Sh. Zhang // *Frontiers in genetics*. 2019. Vol. 10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00072> (дата обращения 13.04.2020).
11. Genome-wide association study for α_{S1} - and α_{S2} -casein phosphorylation in Dutch Holstein Friesian / Z. Fang, H. Bovenhuis, H. Valenberg, P. Martin, S. Duchemin, T. Huppertz, M. Visker // *Journal of Dairy Science*. 2019. Vol. 102. № 2. P. 1374–1385.
12. Bovine β -casein: Isolation, properties and functionality: a review / Z. Atamer, A. Post, T. Schubert, A. Holder, R. Boom, J. Hinrichs // *International Dairy Journal*. 2017. Vol. 66. P. 115–125.
13. Просяков А.Ю., Курбанова М.Г. Анализ состава и свойств белков молока с целью использования в различных отраслях пищевой промышленности // *Техника и технология пищевых производств*. 2009. № 4 (15). С. 68–71.
14. Dalglish D., Spagnuolo P., Goff H. A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy // *International Dairy Journal*. 2004. Vol. 14. № 12. P. 1025–1031.
15. Schmidt D. Association of caseins and casein micelle structure // *Developments in Dairy Chemistry*. 1982. P. 61–86.
16. Horne D. Casein micelle structure: models and muddles // *Colloid Interface Science*. 2006. Vol. 11. P. 148–153.
17. Hydration of casein micelles and caseinates: Implications for casein micelle structure / T. Huppertz, I. Gazi, H. Luyten, H. Nieuwenhuijse, A. Alting, E. Schokker // *International Dairy Journal*. 2017. Vol. 74. P. 1–11.
18. Bijl E., Holland J., Boland M. Posttranslational modifications of caseins. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00005-0> (дата обращения 13.04.2020).
19. Polymorphisms of the kappa casein (CSN3) gene and inference of its variants in water buffalo (*Bubalus bubalis*) / X. Fan, Z. Zhang, L. Qiu, Y. Zhang, Y. Miao // *Archives Animal Breeding*. 2019. Vol. 62. № 2. P. 585–596.
20. O'Riordan N., Kane M., Joshi L., Hickey R. Structural and functional characteristics of bovine milk protein glycosylation // *Glycobiology*. 2014. Vol. 24. № 3. P. 220–236.
21. Термостойчивость молока коров с разными генотипами каппа-казеина / А.В. Бигаева, Х.Х. Гильманов, С.В. Тюлькин, А.Г. Галстян, Р.Р. Вафин // *Пищевая промышленность*. 2019. № 10. С. 59–61.
4. Agarkova E.Yu., Pryanichnikova N.S., *Perspektivnye agrarnye i pishchevye innovatsii: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, Volgograd, 6–7 iyunya 2019* (Promising agricultural and food innovations: Materials of the Intern. sci. and practical conf. Volgograd, June 6–7, 2019), Volgograd, 2019, pp. 297–301.
5. Meldenberg D.N., Yurova E.A., *Pishchevye sistemy: teoriya, metodologiya, praktika: Sbornik nauchnykh trudov XI Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov otdeleniya selskokhozyaystvennykh nauk Rossiyskoy akademii nauk. Moskva, 1 noyabrya 2017 g.* (Food systems: theory, methodology, practice: Coll. of sci. papers of the XI Intern. sci. and practical conf. of young scientists and specialists of the Department of Agricultural Sciences of the Russian Academy of Sci., Moscow, Nov. 1, 2017), Moscow, 2017, p. 211.
6. Bigaeva A.V., Kruchinin A.G., Radaeva I.A., Gilmanov Kh.Kh., Illarionova E.E., *Molochnaya promyshlennost*, 2020, no. 4, pp. 54–55.
7. Lucey J., Cheese, 2017, pp. 179–197.
8. Neamt R., Saplacan G., Acatincai S., Ciszter L., Gavojdian D., Ilie D., *Acta Biochimica Polonica*, 2017, vol. 64, no. 3, pp. 493–497, DOI: 10.18388/abp.2016_1454.
9. Ostroumova T.A., *Khimiya i fizika moloka* (Chemistry and physics of milk), Kemerovo, 2004, 196 p.
10. Zhou C., Li C., Cai W., Liu S., Yin H., Shi Sh., Zhang Q., Zhang Sh., *Frontiers in genetics*, 2019, vol. 10, <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00072>.
11. Fang Z., Bovenhuis H., Valenberg H., Martin P., Duchemin S., Huppertz T., Visker M., *Journal of Dairy Science*, 2019, vol. 102, no. 2, pp. 1374–1385.
12. Atamer Z., Post A., Schubert T., Holder A., Boom R., Hinrichs J., *International Dairy Journal*, 2017, vol. 66, pp. 115–125.
13. Prosekov A.Yu., Kurbanova M.G., *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv*, 2009, no. 4 (15), pp. 68–71.
14. Dalglish D., Spagnuolo P., Goff H., *International Dairy Journal*, 2004, vol. 14, no. 12, pp. 1025–1031.
15. Schmidt D., *Developments in Dairy Chemistry*, 1982, pp. 61–86.
16. Horne D., *Colloid Interface Science*, 2006, vol. 11, pp. 148–153.
17. Huppertz T., Gazi I., Luyten H., Nieuwenhuijse H., Alting A., Schokker E., *International Dairy Journal*, 2017, vol. 74, pp. 1–11.
18. Bijl E., Holland J., Boland M., <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00005-0>.
19. Fan X., Zhang Z., Qiu L., Zhang Y., Miao Y., *Archives Animal Breeding*, 2019, vol. 62, no. 2, pp. 585–596.
20. O'Riordan N., Kane M., Joshi L., Hickey R., *Glycobiology*, 2014, vol. 24, no. 3, pp. 220–236.
21. Bigaeva A.V., Gilmanov Kh.Kh., Tyulkin S.V., Galstyan A.G., Vafin R.R., *Pishchevaya promyshlennost*, 2019, no. 10, pp. 59–61.

Поступила 27.07.20 г.

MOLECULAR GENETIC MODIFICATIONS OF κ -CASEIN

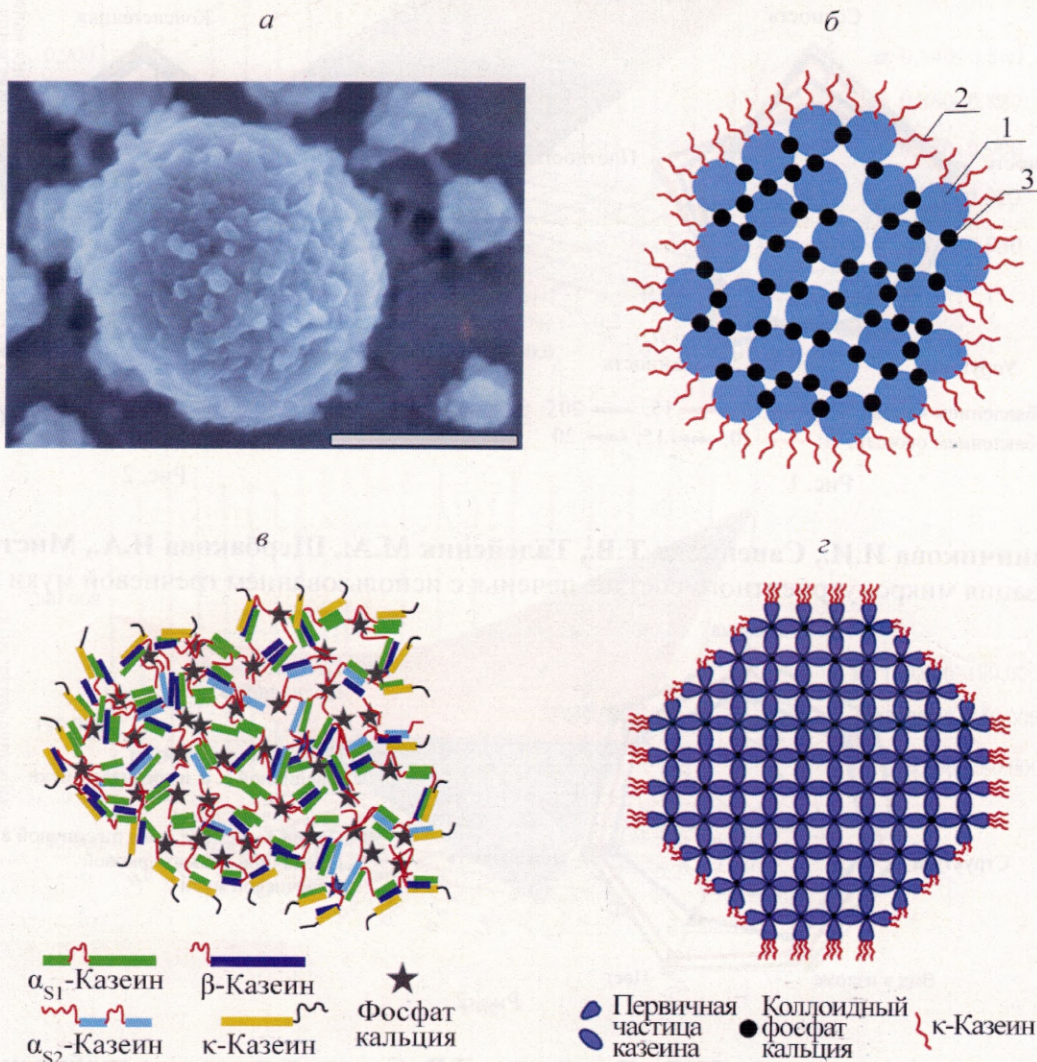
A.G. KRUCHININ, S.N. TUROVSKAYA, E.E. ILLARIONOVA, A.V. BIGAIEVA

All-Russian Dairy Research Institute,

35, bld 7, Lyusinovskaya st., Moscow, Russian Federation, 115093; e-mail: a_kruchinin@vniimi.org

The analysis of the fractional composition and the main models of the molecular structure of casein micelles are given. Being a phosphoprotein, casein is a colloid micellar complex with calcium phosphate and some other minerals. Inner molecule structure of casein's micelle is not thoroughly studied. However, many scientists acknowledge one formation model, in which hydrophilic C-terminal part of kappa casein occupy micelle's surface, thus providing steric and electrostatic repulsion and preventing micelles' aggregation. Kappa casein fraction has a wide polymorphism, but the most common ones are *A* and *B* alleles with a distinctive replacement of amino acids Thr¹⁵⁷→Ile in *B* allele. This genetic modification loses one glycoside center, resulting in milk's cheeseability improvement, but also its heat resistance decrease. Moreover, milk with *B* allele of CSN3 has higher protein content, while *A* allele influences the increase in milk yield. The study of the relationship between the structure of casein micelles, polymorphic variants of casein genes and technological properties allows for the selection of cows to obtain milk with the required technological properties.

Key words: casein micelle, kappa casein, genotype, amino acid sequence, technological properties, cheese suitability, heat resistance.



↓ Аминоконец зрелого белка

1 MMKSFFLVVT ILALTLPFLG A QEQNQEPI RCEKDERFF DKIAKYIPIQ 50

51 YVLSRYP SYG LNYYQKPVA LINNQFLPYP Y AKPAAVR PAQLQWQVL 100

Гидролиз химозином

101 SNTVPAKSCQ AQPTT MARHP HPHLSFMAIP PKNQDKTEI PTINTIASGE 150

I A

151 PTSTPTTEAV ESTVATLED PEVIESPPEINTVQVTSTAV 190

Рис. 2