

## ВЛИЯНИЕ СЕЗОНА ГОДА И ЛАКТАЦИИ НА СОСТАВ МОЛОКА КОЗ – ПРОДУЦЕНТОВ БИОАНАЛОГА ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА

**А. И. Будевич**, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

**Е. В. Петрушко**, научный сотрудник

**Д. М. Богданович**, кандидат сельскохозяйственных наук,  
доцент

**В. Н. Кузнецова**, научный сотрудник

**Ю. К. Кирикович**, научный сотрудник

Республиканское унитарное предприятие  
«Научно-практический центр Национальной академии  
наук Беларуси по животноводству», Жодино,

Республика Беларусь

E-mail: budevich7388100@mail.ru

**Ключевые слова:** биоаналог лактоферрина человека, козы-продуценты, лактация, рекомбинантный человеческий лактоферрин, сезон года, трансгенные животные, физико-химические показатели, молоко

**Реферат.** Установлена сезонная вариабельность физико-химических показателей молока как обычных коз, так и животных–продуцентов биоаналога лактоферрина человека. Средние значения массовой доли жира, белка, лактозы, СОМО, показателя плотности во втором и третьем кварталах были ниже по сравнению с первым и четвертым. При этом разница между весенне-летним и осенне-зимним периодами в массовой доле жира составила 25 %, в массовой доле белка, лактозы, СОМО, плотности – 5–7 %. Сравнительный анализ молока коз–продуцентов биоаналога лактоферрина человека различных лактаций позволил выявить ряд изменений в физико-химическом составе сырья по сравнению с не-трансгенными животными: увеличение массовой доли белка на 4–6 % ( $P<0,05$ ), лактозы – на 2–6 ( $P<0,05$ ), СОМО – на 1–6, плотности – на 2–5 % ( $P<0,05$ ), температуры заморзания – на 5 и снижение массовой доли жира на 5–8 % ( $P<0,05$ ). При этом показатели активной и титруемой кислотности молока были аналогичны во всех группах животных. В то же время концентрация лактоферрина человека в молоке продуцентов второй и третьей лактации имела практически идентичные сезонные изменения усиления и ослабления синтеза лактоферрина в молочной железе в течение года: в первом квартале – 2,88 и 2,97 г/л, во втором – 4,76 и 4,63, в третьем – 7,44 и 7,55 и в четвертом – 7,97 и 6,72 при среднегодовом значении показателя 5,84 и 5,72 г/л соответственно.

## INFLUENCE OF THE SEASON AND LACTATION ON THE MILK COMPOSITION OF GOATS-PRODUCERS OF BIOSIMILAR HUMAN LACTOFERRIN

**A. I. Budevich**, Candidate of Agricultural Sciences, Associate professor

**E. V. Petrushko**, Researcher

**D. M. Bogdanovich**, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor

**V. N. Kuznetsova**, Researcher

**Iu. K. Kirikovich**, Researcher

Republic Unitary Enterprise “Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Livestock”, Zhodino, Republic of Belarus

**Key words:** biosimilar human lactoferrin, producer goats, lactation, recombinant human lactoferrin, season, transgenic animals, physicochemical parameters, milk.

*Abstract. The seasonal variability of the physicochemical parameters of milk of both ordinary goats and goats producers of a biosimilar human lactoferrin has been established. The average values of the mass fraction of fat, protein, lactose, nonfat milk solids, density index in the second and third quarters were lower than in the first and fourth quarters. At the same time, the difference between the spring-summer and autumn-winter periods in the mass fraction of fat was 25 %. In the mass fraction of protein, lactose, nonfat milk solids, density it was 5–7 %. Comparative analysis of milk from goats-producers of a biosimilar human lactoferrin of various lactations revealed a number of changes in the physicochemical composition of raw materials in comparison with non-transgenic animals: an increase in the mass fraction of protein by 4–6 % ( $P < 0.05$ ), of lactose by 2–6 ( $P < 0.05$ ), nonfat milk solids by 1–6, density by 2–5 % ( $P < 0.05$ ), freezing temperature by 5 and a decrease in the mass fraction of fat by 5–8 % ( $P < 0, 05$ ). At the same time, the indicators of active and titratable acidity of milk were similar in all groups of animals. At the same time, the concentration of human lactoferrin in the milk of producers of the second and third lactation had almost identical seasonal changes in the increase and decrease in the synthesis of lactoferrin in the mammary gland during the year: in the first quarter – 2.88 and 2.97 g/l, in the second – 4.76 and 4.63, in the third – 7.44 and 7.55 and in the fourth – 7.97 and 6.72 with an average annual value of 5.84 and 5.72 g/l, respectively.*

Лактоферрин (ЛФ) является многофункциональным гликопротеином, находящимся в различных жидкостях организма, включая молоко млекопитающих, слюну, слезную жидкость, бронхиальную слизь, секреты желудочно-кишечного тракта и мочу, данный белок также присутствует в нейтрофильных гранулах лейкоцитов.

Установлен широкий спектр активностей лактоферрина, таких как противовирусные, антимикробные, противогрибковые, противопаразитарные, иммуномодулирующие и антиоксидантные [1]. Лактоферрин как многофункциональный белок, участвующий в важнейших физиологических процессах организма, поставлен в один ряд с перспективными источниками для разработки инновационных лекарственных средств по различным направлениям использования, что вполне очевидно, принимая во внимание его биологическую активность [2]. Кроме того, ЛФ-фрагменты – лактоферрицины, находящиеся внутри белковой молекулы ЛФ и получаемые при действии протеолитических ферментов, обладают еще большими физиологическими эффектами по сравнению с интактным лактоферрином ввиду их многочисленных биоактивных свойств: были показаны мощные эффекты лактоферрицинов в лечении различных инфекционных заболеваний, вызванных бактериями, грибами и простейшими у людей и животных [3].

Ранее установлено, что ЛФ обладает противовирусной активностью в отношении ряда РНК- и ДНК-содержащих вирусов [4], использующих поверхностные молекулы клеточной мембраны, такие как гепаран-сульфат-протеогликаны (HSPG), для проникновения в клетки, в том числе для прикрепления вируса SARS-CoV-2 [5]. При этом ЛФ может предотвращать интернализацию некоторых вирусов после связывания с HSPG, присутствующими в большинстве клеток, что в последнее время послужило основанием для предположения о важной роли ЛФ в иммунной защите человека от инвазии COVID-19 [6]. Кроме того, в опытах на животных моделях и в ряде клинических испытаний применение ЛФ инициировало устойчивое снижение концентрации в крови ряда воспалительных медиаторов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), дисбаланс которых способен вызывать «цитокиновый шторм» у пациентов с тяжелым течением заболевания COVID-19 [7], которое распространилось более чем в 200 странах мира в течение трех месяцев и имеет более высокий уровень смертности (~3 %) по сравнению с пандемией H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> в 2009 г. (0,02 %) [8].

Основным источником лактоферрина служит молоко млекопитающих, причем белки, полученные из коровьего и человеческого сырья, по набору аминокислот совпадают лишь на 67%, а более высокая чувствитель-

ность рецепторов человека к ЛФ из женского молока делает его более перспективным в использовании для нужд людей и предполагает наличие соответствующих ресурсов для масштабного производства данного белка [9].

В этих целях, используя технологию микроинъекции, рекомбинантный лактоферрин человека (рчЛФ) получили в молоке трансгенных коров и коз с концентрацией белка 0,2–2 и 0,311–0,576 мг/мл соответственно [10]. M. Wang et al. [11] сообщили о создании стада из более чем 200 трансгенных коров, продуцирующих активный рчЛФ с содержанием его в молоке 4,5–13,6 г/л. При этом рекомбинантный белок проявлял сходную ферментативную активность с естественным гликопротеином человека в связывании и высвобождении железа и может быть произведен в больших количествах (400–450 г в день) после переработки 100 л молока. Отмечалось, что у коров-продуцентов рчЛФ не наблюдалось никаких внешних изменений, физиологические и биохимические показатели крови были в пределах нормы, несмотря на то, что показатель общего белка был значительно выше по сравнению с молоком обычных животных.

Ранее сообщалось [12–14], что биоаналог лактоферрина человека, полученный в молоке коз-продуцентов, по своим физико-химическим параметрам не отличается от природного белка, выделенного из женского молока, при этом наличие стада трансгенных животных делает возможным производство данного гликопротеина в больших количествах. В свою очередь, синтез дополнительной чужеродной субстанции в молочной железе животного предопределяет физиологически обусловленное взаимодействие с процессом образования «эволюционно закрепленных» компонентов молока, изучение которого будет способствовать более эффективному использованию продуцентов для промышленного производства «белка интереса».

В связи с вышеизложенным цель работы заключалась в изучении влияния сезона года и лактации на физико-химические показатели

молока коз во взаимосвязи с продукцией биоаналога лактоферрина человека.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились на Биотехнологическом научно-экспериментальном производстве по трансгенезу животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Изучались физико-химические показатели молока коз-продуцентов лактоферрина человека второго и третьего года лактации с определением концентрации рекомбинантного белка в молоке.

Молоко, предназначенное для исследований, получено от здоровых коз-продуцентов рчЛФ (опытная группа, n=22), а также нетрансгенных коз (контрольная группа, n=20) живой массой 35–40 кг. Условия кормления и содержания опытной и контрольной групп животных в течение всего периода исследований были одинаковыми. Учитывались данные периода лактации, который продолжался с января по ноябрь, а также данные от введенных в опыт животных взамен выбывших с учетным периодом с мая по декабрь.

Для изучения физико-химических показателей молоко группы коз перемешивалось, брались образцы в объеме 200–250 мл и помещались в холодильную камеру на срок не менее 2 ч для охлаждения до температуры  $4 \pm 2$  °С. Определение массовой доли жира (%), массовой доли белка (%), плотности (°А), массовой доли СОМО (%), массовой доли лактозы (%), температуры замерзания (°С), активной кислотности (рН) и титруемой кислотности (°Т) выполнялись на ультразвуковом анализаторе молока Ekomilk ultra (Болгария).

Для определения рчЛФ в группах коз второй (n=11) и третьей (n=11) лактации отбор проб молока в объеме 1,5 мл проводился от каждого животного ежемесячно во время дневной дойки в индивидуальный передвижной доильный аппарат, исключая молочивный период, после чего пробирки с сы-

рьем замораживались в морозильной камере при  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Концентрацию лактоферрина в молоке определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) набором, разработанным ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (г. Санкт-Петербург), в соответствии с инструкцией производителя. Анализ проводился с использованием микропланшетного спектрофотометра Sunrise (Tecan, Австрия) и пакета программ Magellan 6 (Tecan, Австрия).

Полученные результаты были обработаны статистически с помощью приложения Statistica 13 (StatSoft). Анализ различий между опытной и контрольной группой был проведен с использованием критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследований установлено, что молочная продуктивность опытной и контрольной групп коз в исследуемый период различалась незначительно (табл. 1 и 2). Наибольший удой отмечен во втором-третьем кварталах (у коз второй лактации обеих групп – 0,9–1,4, у животных третьей – 0,7–0,9 л). Соответственно, снижение удоя наблюдалось в осенне-зимний период (первый и четвертый кварталы), когда изменялся рацион кормления коз, наступал сезон прихода животных в охоту и их осеменения, а также в период запуска и рождения козлят. В этот период у коз-продуцентов рчЛФ второго и третьего года лактации средняя продуктивность составила 0,6 л.

Сезонные изменения оказали влияние на показатели молока как контрольных, так и опытных групп коз. В середине лактации у всех групп животных значения массовой доли жира, белка, СОМО, показателя плотности, лактозы, титруемой кислотности во втором и третьем кварталах были ниже по сравнению с первым и четвертым. Так, межсезонная разница по массовой доле жира составила 25%, белка, СОМО, плотности, лактозы – 5–7%, тогда как значения pH и температуры

замерзания молока в весенне-летний период были на 2–7% выше, чем в осенне-зимний.

Полученные результаты согласуются с данными литературы [15], которые указывают на взаимосвязь сезонных факторов с продуктивностью и компонентным составом молока животных. При этом очевидно, что синтез дополнительного белка также мог повлиять на показатели молока коз-продуцентов рчЛФ.

Установлено, что показатели содержания белка, СОМО, лактозы, а также плотность сырья были достоверно выше ( $P<0,05$ ) в молоке трансгенных коз по сравнению с обычными животными, при этом данное различие сохранялось на протяжении всего периода исследований и не зависело от сезона года.

Между группами трансгенных и обычных коз второго года лактации (см. табл. 1) статистически значимые различия в массовой доле белка в молоке (рис. 1) были отмечены во втором и третьем кварталах – 0,3 п.п. ( $P<0,05$ ) и 0,2 п.п. ( $P<0,05$ ) соответственно. Также продуценты рчЛФ второй лактации отличались более высокими значениями следующих показателей: СОМО – на 0,2 п.п. в первом квартале (9,2% в контроле против 9,4% в опытной группе,  $P<0,05$ ); плотности молока ( $P<0,05$ ) в четвертом квартале; массовой доли лактозы – на 0,3 п.п. (4,8% в контроле и 5,1% в опыте соответственно,  $P<0,05$ ) в первом квартале).

В свою очередь, у коз-продуцентов рчЛФ третьей лактации (см. табл. 2) наблюдалось статистически значимое повышение массовой доли белка в молоке на протяжении всего исследуемого периода (рис. 2) – на 0,2 п.п. (3,3% в контроле и 3,5% в опыте,  $P<0,05$ ) в первом-четвертом кварталах, статистически значимое увеличение СОМО в первом-третьем кварталах ( $P<0,05$ ), плотность молока у трансгенных животных была выше в первом-третьем кварталах ( $P<0,05$ ), а массовая доля лактозы в молоке коз-продуцентов в среднем по периоду была выше на 0,3 п.п. (4,7% в контроле и 5,0% в опыте ( $P<0,05$ )).

В то же время содержание жира в молоке коз-продуцентов было меньше по сравнению



Таблица 1

Продуктивность и физико-химические показатели молока коз второго года лактации  
Productivity and physicochemical indicators of milk from goats of the second year of lactation

Показатель	Контрольная группа (n=20)					Опытная группа (n=22)				
	1-й кв.	2-й кв.	3-й кв.	4-й кв.	В среднем за период	1-й кв.	2-й кв.	3-й кв.	4-й кв.	В среднем за период
Удой, л	0,50±0,05	1,40±0,06	0,90±0,05	0,50±0,05	0,83±0,21	0,70±0,17	1,40±0,07	0,90±0,04	0,50±0,05	0,88 ±0,19
Жир, %	4,80±0,32	2,90±0,15	3,50±0,18	4,20±0,60	3,90±0,41	4,60±0,19***	3,00±0,12	3,10±0,09	4,00±0,6	3,70±0,38
Белок, %	3,40±0,07	3,10±0,04	3,100,06	3,40±0,04	3,30±0,09	3,50±0,08	3,40±0,04***	3,30±0,03**	3,60±0,04	3,50±0,06
СОМО, %	9,20±0,16	8,20±0,11	8,40±0,18	8,60±0,12	8,60±0,22	9,40±0,18***	8,30±0,10	8,50±0,08	8,90±0,11	8,80±0,24
Плотность, °А	29,40±0,63	28,50±0,38	27,40±0,75	28,40±0,43	28,40±0,41	30,90±0,66	28,10±0,38	28,80±0,27	29,60±0,33*	29,40±0,60
Лактоза, %	4,80±0,01	4,50±0,06	4,50±0,07	4,70±0,06	4,60±0,08	5,10±0,11***	4,50±0,05	4,60±0,04	4,90±0,10	4,80±0,14
Температура замерзания, °С	-0,57±1,10	-0,54±0,72	-0,54±0,98	-0,56±0,69	-0,55±0,01	-0,60±1,08	-0,54±0,69	-0,54±1,06	-0,58±0,90	-0,58±0,02
Активная кислотность, pH	6,70±0,04	6,80±0,60	6,90±0,38	6,70±0,28	6,80±0,05	6,70±0,02	6,80±0,32	7,00±0,44	6,90±0,32	6,90±0,06
Титруемая кислотность, °Т	16,50±0,30	13,30±0,74	12,20±0,43	16,70±0,47	14,70±1,13	15,40±0,38	14,50±0,56	14,10±0,51	15,10±0,62	14,80±0,58

Примечание. Здесь и в табл. 2: \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001, рассчитаны для показателей опытной группы относительно показателей контрольной группы (парные сравнения, t-критерий Стьюдента). Данные представлены в виде среднего значения плюс-минус стандартная ошибка среднего (SEM).

Here and in table. 2: \*\* P<0.01; \*\*\* P<0.001, calculated for the indicators of the experimental group relative to the indicators of the control group (pairwise comparisons, Student t-test). Data are presented as mean ± standard error of the mean (SEM)

Таблица 2

Продуктивность и физико-химические показатели молока коз третьего года лактации  
Productivity and physicochemical indicators of milk from goats of the third year of lactation

Показатель	Контрольная группа (n=20)					Опытная группа (n=22)				
	1-й кв.	2-й кв.	3-й кв.	4-й кв.	В среднем за период	1-й кв.	2-й кв.	3-й кв.	4-й кв.	В среднем за период
Удой, л	0,60±0,05	0,70±0,05	0,70±0,06	0,50±0,03	0,63±0,05	0,60±0,03	0,70±0,03	0,90±0,05	0,60±0,02	0,70±0,07
Жир, %	3,80±0,21	3,50±0,12	3,10±0,14	4,30±0,17	3,70±0,25	3,60±0,09	3,10±0,07**	2,90±0,09	4,10±0,13	3,40±0,27
Белок, %	3,40±0,03	3,20±0,03	3,10±0,05	3,40±0,05	3,30±0,07	3,60±0,02***	3,40±0,03***	3,40±0,03***	3,60±0,04**	3,50±0,06*
СОМО, %	9,10±0,09	8,50±0,11	8,30±0,13	9,10±0,11	8,80±0,21	9,60±0,06***	9,00±0,08***	8,90±0,08***	9,20±0,09	9,20±0,15
Плотность, °А	30,50±0,26	28,50±0,33	28,00±0,38	30,40±0,41	29,40±0,64	32,60±0,22***	30,90±0,38***	30,50±0,30***	30,30±0,35	31,10±0,52*
Лактоза, %	4,90±0,05	4,60±0,06	4,50±0,07	4,90±0,07	4,70±0,10	5,30±0,03***	4,90±0,05***	4,90±0,04***	5,00±0,05	5,00±0,09*
Температура замерзания, °С	-0,59±0,49	-0,56±0,68	-0,54±0,82	-0,58±0,73	-0,57±0,01	-0,62±0,35	-0,59±0,55	-0,57±0,33	-0,59±0,55	0,59±0,01***
Активная кислотность, pH	6,90±0,03	6,90±0,02	6,90±0,04	6,70±0,02	6,90±0,05	6,90±0,02	6,90±0,02	7,10±0,18	6,70±0,02	6,90±0,08
Титруемая кислотность, °Т	12,30±0,54	11,80±0,43	12,90±0,56	16,20±0,20	13,30±0,99	12,10±0,20	11,80±0,41	11,00±0,52	16,50±0,30	12,90±1,24

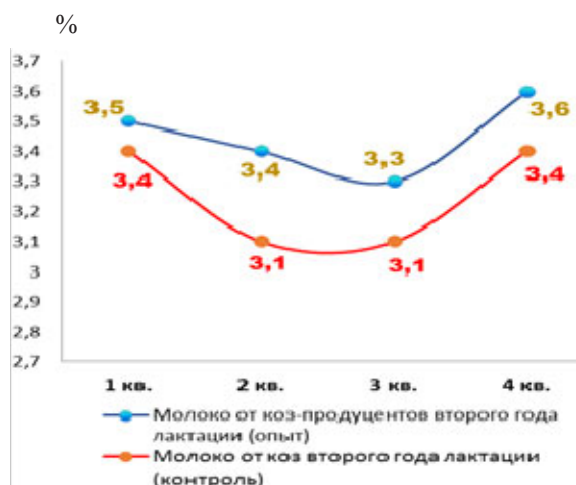


Рис. 1. Массовая доля белка в молоке коз опытной и контрольной группы второго года лактации  
Mass fraction of protein in the milk of goats of the experimental and control groups of the second year of lactation

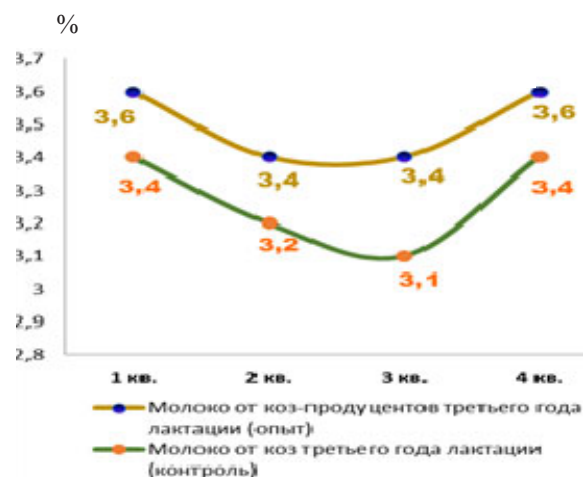


Рис. 2. Массовая доля белка в молоке коз опытной и контрольной группы третьего года лактации  
Mass fraction of protein in the milk of goats of the experimental and control groups of the third year of lactation

с нетрансгенными животными (см. табл. 1 и 2). Так, разница между группами животных второго года лактации составила 0,2 п.п. в первом квартале (3,9 и 3,7% в контроле и опыте соответственно,  $P < 0,05$ ) (рис. 3), а у коз третьей лактации – 0,3 п.п. во втором квартале (3,7% в контроле против 3,4% в опыте,  $P < 0,05$ ) (рис. 4).

Вышеизложенные результаты исследований подтверждают полученные ранее данные у коз первого и второго года лактации [16]. Вероятно, выработка молочной железой еще

одного дополнительного компонента требует обеспечения некоего равновесия коллоидной системы молока, которое достигается физиологически обусловленной коррекцией синтеза его природных составляющих. При этом молоко животных-производителей соответствует предъявляемым требованиям к сырью, регламентированным соответствующей нормативно-технической документацией как для обычных, так и для трансгенных коз (ТУ ВУ 100098867.309–2012, ТУ ВУ 1000377914.518–2005).

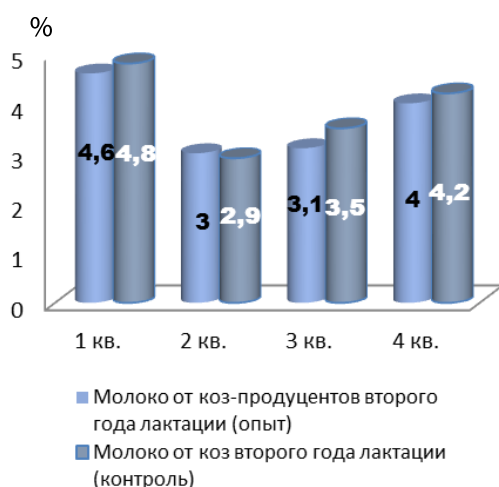


Рис. 3. Массовая доля жира в молоке коз опытной и контрольной группы второго года лактации  
Mass fraction of fat in the milk of goats of the experimental and control groups of the second year of lactation

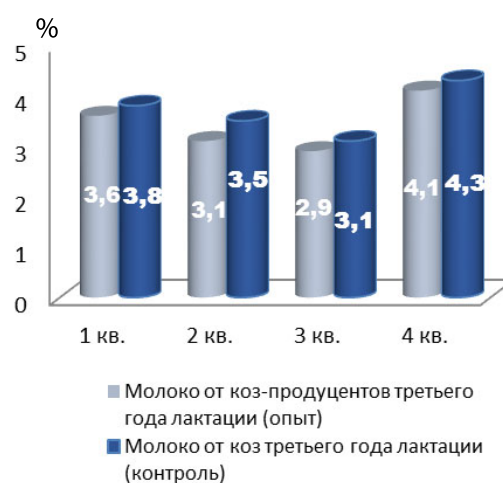


Рис. 4. Массовая доля жира в молоке коз опытной и контрольной группы третьего года лактации  
Mass fraction of fat in the milk of goats of the experimental and control groups of the third year of lactation

Среднее значение показателя титруемой кислотности у групп животных второй лактации (опытной и контрольной) было в пределах 14,7–14,8°Т, у групп третьей – 12,9–13,3°Т, при этом значения показателя активной кислотности у этих же групп коз были идентичны – 6,8–6,9 (см. табл. 1 и 2).

Следует отметить некоторое снижение показателя температуры замерзания молока. Значения, полученные при тестировании продукта контрольных групп животных (второй и третьей лактации), находились в диапазоне от –0,54 до –0,59 °С, тогда как в молоке трансгенных групп от –0,54 до –0,62 °С. Вероятно, данный факт также связан с изменением компонентного состава молока.

Можно предположить, что различия в показателях молока сравниваемых групп трансгенных и нетрансгенных коз обусловлены сверхэкспрессией гена лактоферрина человека (в сравнении с экспрессией гена нативного козьего лактоферрина) в эпителиальных клетках молочной железы животных-продуцентов. Вместе с тем исследования показали, что изменения основных физико-химических показателей и состава молока, содержащего рчЛФ, не выходят за рамки предельно допустимых значений.

Таким образом, полученные результаты служат еще одним свидетельством гармоничной интродукции чужеродной ДНК-составляющей в геном реципиента.

В табл. 3 и 4 приведены данные по содержанию биоаналога лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов, которые свидетельствуют об активном синтезе белка у всех животных в течение исследуемого периода. Среднегодовой уровень содержания рекомбинантного белка составил 5,84 г/л у коз второй лактации и 5,72 г/л у животных третьей лактации (см. табл. 3 и 4, рис. 5).

Животные второй лактации вырабатывали на 0,12 г/л, или на 2%, больше белка по сравнению с козами третьего года лактации. Различия в количественном показателе рчЛФ в молоке трансгенных коз между группами животных второй и третьей лактации статистически недостоверны.

В исследуемый период концентрация белка изменялась следующим образом: в январе разница между группами составила 0,38 г/л, или 11%, с преимуществом животных третьей лактации; в феврале и марте отмечалась незначительное превосходство (на 2%) по количеству рчЛФ коз второго года лактации (см. рис. 5). В указанный период концентрация лактоферрина составила 2,74 и 2,98 г/л у коз второй лактации и 2,69 и 2,93 г/л у животных третьей лактации соответственно. В апреле отмечался незначительный спад продукции рекомбинантного белка у коз третьей лактации (2,85 против 3,28 г/л у животных второй лактации), средняя концентрация лактоферрина была ниже на 0,43 г/л, что составило 13%.

Как видно из данных табл. 3 и 4 и рис. 5, в мае уровень рчЛФ значительно увеличился и составил 4,93 и 4,97 г/л у второй и третьей исследуемых групп соответственно. Очевидно, в весенний период года в молочной железе активизируются процессы синтеза рчЛФ, что, вероятно, связано с изменением сезонных ритмов (увеличение продолжительности светового дня) и включением в рацион животных зеленых кормов.

Содержание рекомбинантного лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов было практически одинаковым в июне – 6,08 и 6,07 г/л у животных второй и третьей лактации соответственно и свидетельствовало об увеличении его концентрации по сравнению с маем. Разница между месяцами составила 19% у коз второго года лактации (6,08 г/л против 4,93) и 18% у животных третьего года (6,07 г/л против 4,97). В июле содержание белка в молоке продуцентов третьего года лактации за полгода превысило показатели животных второй лактации данного периода на 7,5%.

В августе содержание рчЛФ достигло отметки 7,78 и 7,74 г/л у коз второй и третьей лактации соответственно. С сентября отмечено снижение уровня продукции лактоферрина – разница между группами составила 2% (7,63 и 7,47 г/л соответственно), в октябре – 8% (7,39 и 6,8 г/л соответственно) и к но-

Таблица 3

Концентрация биоаналога лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов второй лактации, г/л  
Concentration of a biosimilar human lactoferrin in the milk of goats-producers of the second lactation, g/l

Номер козы	Январь	Февраль	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь	Среднее содержание по году
3430	0,27	0,03	0,30	0,90	0,78	0,17	0,12	0,01	0,03	0,73	0,11	-	0,40±0,12
1978	2,80	2,44	1,94	0,76	2,81	4,14	7,64	6,7	3,79	4,97	5,02	-	3,91±0,62
0462	3,30	2,03	3,03	3,19	3,43	7,67	6,33	8,41	8,64	8,01	4,57	-	5,33±0,76
3465	4,45	3,59	3,30	2,98	6,69	6,87	7,44	10,2	11,4	11,8	12,20	-	7,36±1,07
0834	3,20	3,70	3,26	7,60	8,70	9,20	8,90	9,21	8,54	9,22	5,67	-	7,02±0,77
0850	3,31	2,02	3,51	2,04	4,49	5,33	8,23	7,17	8,61	9,12	7,81	-	5,60±0,81
0715	2,48	2,48	2,50	3,95	6,89	4,71	8,17	7,88	8,61	7,64	7,90	-	5,75±0,75
0777	3,79	2,34	2,96	4,07	2,42	4,49	5,88	6,64	5,97	3,96	3,10	-	4,15±0,44
3460	2,60	6,05	5,99	3,99	4,80	7,60	8,36	8,71	5,10	6,83	7,20	-	6,11±0,57
0847	-	-	-	-	7,83	8,67	6,98	10,4	11,9	8,32	11,30	8,34	9,22±0,62
0433	-	-	-	-	5,43	8,02	7,64	10,21	11,3	10,72	11,22	10,66	9,40±0,75
В среднем	2,91±0,39	2,74±0,54	2,98±0,50	3,28±0,69	4,93±0,74	6,08±0,79	6,88±0,73	7,78±0,88	7,63±1,09	7,39±0,96	7,01±1,07	9,5±1,16	5,84±0,77
В среднем по кварталу	2,88±0,48			4,76±0,74			7,44±0,9			7,97±1,06			-

Таблица 4

Концентрация биоаналога лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов третьей лактации, г/л  
Concentration of a biosimilar human lactoferrin in the milk of goats-producers of the third lactation, g/l

Номер козы	Январь	Февраль	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь	Среднее содержание по году
3426	2,36	1,49	2,15	2,71	1,79	4,35	6,58	8,10	8,10	8,03	5,82	-	4,62±0,82
3435	3,07	2,67	1,69	1,45	5,07	6,20	7,40	4,71	3,72	1,54	1,30	-	3,53±0,63
3443	2,32	2,6	3,16	3,13	3,17	7,71	7,43	8,32	8,12	7,19	3,73	-	5,17±0,76
3483	3,49	2,84	2,57	2,58	5,40	6,64	7,08	8,27	7,16	7,34	6,16	-	5,41±0,65
0832	4,90	2,38	2,85	2,10	2,24	5,13	7,56	8,20	7,73	7,42	4,41	-	4,99±0,73
0848	3,48	2,76	5,57	5,64	7,69	7,73	9,17	8,55	9,12	8,34	9,02	-	7,00±0,69
0752	3,17	3,94	2,85	2,60	3,44	1,78	7,05	8,10	8,20	8,42	8,00	-	5,23±0,81
3484	3,49	2,84	2,57	2,58	5,40	6,64	7,08	8,27	7,16	7,34	6,16	-	5,41±0,65
0814	-	-	-	-	5,41	7,82	8,97	9,10	8,14	5,95	7,58	6,99	7,50±0,47
0434	-	-	-	-	7,01	6,35	5,89	6,45	6,88	5,12	6,42	6,76	6,36±0,22
0934	-	-	-	-	8,04	6,45	7,50	7,06	7,83	8,12	7,84	8,21	7,63±0,21
В среднем	3,29±0,29	2,69±0,24	2,93±0,41	2,85±0,44	4,97±0,64	6,07±0,54	7,43±0,28	7,74±0,37	7,47±0,42	6,8±0,61	6,04±0,67	7,32±0,45	5,72±0,38
В среднем по кварталу	2,97±0,31			4,63±0,54			7,55±0,36			6,72±0,58			-



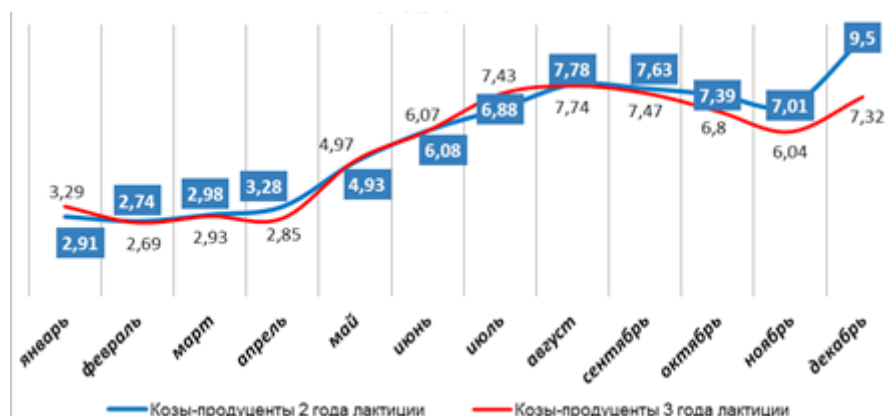


Рис. 5. Содержание рекомбинантного лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов в исследуемый период

Content of recombinant human lactoferrin in milk of goat producers during the study period

ября понизилась до 14% между группами (7,01 и 6,04 г/л соответственно). Постепенное уменьшение синтеза лактоферрина в молочной железе, по нашему мнению, можно связать с изменением сезонных ритмов и рациона животных. При этом была отмечена более высокая концентрация рекомбинантного белка у коз, анализ продукции которых осуществлялся с мая, в декабре – 9,5 и 7,32 г/л у животных второй и третьей лактации, что было выше уровня ноября на 26 и 17% соответственно. Можно предположить, что имел место физиологический сдвиг в синтезе белка у животных в связи с их поздними козлениями, что может быть использовано для регуляции в целях более равномерного производства лактоферрина в течение года.

Необходимо отметить, что коза № 3430 второго года лактации (см. табл. 3) имела существенно более низкий уровень продукции рчЛФ – от 0,01 до 1,11 г/л (в среднем 0,4 г/л), что в 14 раз меньше данного показателя по стаду (5,61 г/л). В этой связи своевременный мониторинг каждого животного на содержание лактоферрина в молоке является важнейшим фактором эффективности использования стада продуцентов при его промышленном производстве. По данным некоторых авторов [17], одной из причин низкой продукции «белка интереса» может являться позиционный эффект, когда происходит интеграция генной конструкции в неактивную область хромосомы, при этом процесс выработки це-

левого белка молочной железой замедляется или не происходит.

Установлено, что у животных как второй, так и третьей лактации наблюдались практически идентичные периоды усиления и ослабления синтеза лактоферрина в молочной железе в течение года: в первом квартале – 2,88 и 2,97 г/л, во втором – 4,76 и 4,63, в третьем – 7,44 и 7,55 и в четвертом – 7,97 и 6,72 при среднегодовом значении показателя 5,82 и 6,72 г/л соответственно (см. табл. 3 и 4, рис. 5).

## ВЫВОДЫ

1. Установлено влияние сезона года и лактации на физико-химические показатели молока коз-продуцентов биоаналога лактоферрина человека и концентрацию рекомбинантного белка, учет которых будет способствовать более эффективному использованию трансгенных животных для промышленного производства данного гликопротеина.

2. Значения физико-химических показателей молока (белок, лактоза, СОМО, плотность, температура замерзания) у трансгенных животных как второго, так и третьего года лактации были достоверно выше на 1–6% ( $P < 0,05$ ) по сравнению с обычными животными, при этом отмечалось снижение массовой доли жира в молоке коз-продуцентов рчЛФ на 5–8% ( $P < 0,05$ ).

3. Концентрация рекомбинантного белка в молоке в течение года составила 5,84

г/л у коз второй лактации и 5,72 г/л у животных (летне-осенний) синтеза белка были практически идентичны у производителей обеих ослабления (зимне-весенний) и усиления лактаций.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Multifunctional* Iron Bound Lactoferrin and Nanomedicinal Approaches to Enhance Its Bioactive Functions / J. R. Kanwar [et al.] // *Molecules*. – 2015. – Vol. 20 (6). – P. 9703–9731.
2. *Antimicrobial* Activity of Lactoferrin-Related Peptides and Applications in Human and Veterinary Medicine / N. Bruni [et al.] // *Molecules*. – 2016. – Vol. 21. – P. 2–25.
3. *Preparation* and antimicrobial action of three tryptic digested functional molecules of bovine lactoferrin / N. Rastogi [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9 (3). – e90011.
4. *Effect* of lactoferrin on taste and smell abnormalities induced by chemotherapy: A proteome analysis / A. Wang [et al.] // *Food Funct.* – 2018. – Vol. 9. – P. 4948–4958.
5. *Inhibition* of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans / J. Lang Wang [et al.] // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6 (8). – e23710.
6. *Liposomal* Lactoferrin as Potential Preventative and Cure for COVID-19 / G. Serrano [et al.] // *Int. J. of Research in Health Sciences*. – 2020. – Vol. 8. – P. 4–15.
7. *Lactoferrin*: Balancing ups and downs of inflammation due to microbial infections / M. E. Drago-Serrano [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18 (3). – P. 1–25.
8. *Rosales-Mendoza S.* Will plant-made biopharmaceuticals play a role in the fight against COVID-19? // *Expert Opinion on Biological Therapy*. – 2020. – Vol. 20 (6). – P. 1–4.
9. *Возможности* применения лактоферрина у детей первого года жизни / П.Е. Садчиков [и др.] // *В практику педиатра*. – 2016. – Т. 13, № 6. – С. 607–613.
10. *One-step* multiplex transgenesis via sleeping beauty transposition in cattle / W. Garrels [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – DOI: 10.1038/srep21953.
11. *Large-scale* production of recombinant human lactoferrin from high-expression, marker-free transgenic cloned cows / Ming Wang [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – DOI:10.1038/s41598-017-11462-z.
12. *Recombinant* human lactoferrin from transgenic goats: isolation and physicochemical properties / I. Semak [et al.] // *The Xth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and applications*, 08–12 May, 2011. Mazatlan, Mexico. – P-VI-6. – P. 74.
13. *Recombinant* human lactoferrin expressed in transgenic goats / A. Budzevich [et al.] // *The Xth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and applications*, 08–12 May, 2011. Mazatlan, Mexico. – O-VI-2. – P. 66.
14. *Development* of dairy herd of transgenic goats as biofactory for large-scale production of biologically active recombinant human lactoferrin / I. Semak [et al.] // *Transgenic Research*. – 2019. – Vol. 28. – P. 465–478.
15. *Seasonal* variations of saanen goat milk composition and the impact of climatic conditions / N. V. Kljajevic [et al.] // *J. Food Sci. Technol.* – 2018. – Vol. 55 (1). – P. 299–303.
16. *Характеристика* физико-химических показателей молока коз–производителей лактоферрина человека / Е.В. Петрушко [и др.] // *Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр.* – Жодино, 2016. – Т. 51, ч. 2. – С. 208–216.
17. *Productions* and processing of milk from transgenic goats expressing human 7 lysozyme in the mammary gland / E. A. Maga [et al.] // *J. of Dairy Sci.* – 2006. – Vol. 89, N 2. – P. 518–524.

## REFERENCES

1. Kanwar J.R. et al., Multifunctional Iron Bound Lactoferrin and Nanomedicinal Approaches to Enhance Its Bioactive Functions, *Molecules*, 2015, Vol. 20 (6), pp. 9703–9731.
2. Bruni N. et al., Antimicrobial Activity of Lactoferrin-Related Peptides and Applications in Human and Veterinary Medicine, *Molecules*, 2016, Vol. 21, pp. 2–25.
3. Rastogi N. et al., Preparation and antimicrobial action of three tryptic digested functional molecules of bovine lactoferrin, *PLoS ONE*, 2014, Vol. 9 (3), e90011.
4. Wang A. et al., Effect of lactoferrin on taste and smell abnormalities induced by chemotherapy: A proteome analysis, *Food Funct.*, 2018, Vol. 9, pp. 4948–4958.
5. Lang Wang J. et al., Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans, *PLoS One*, 2011, Vol. 6 (8), e23710.
6. Serrano G. et al., Liposomal Lactoferrin as Potential Preventative and Cure for COVID-19, *Int. J. of Research in Health Sciences*, 2020, Vol. 8, pp. 4–15.
7. Drago-Serrano M.E. et al., Lactoferrin: Balancing ups and downs of inflammation due to microbial infections, *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, Vol. 18 (3), pp. 1–25.
8. Rosales-Mendoza S., Will plant-made biopharmaceuticals play a role in the fight against COVID-19?, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2020, Vol. 20 (6), pp. 1–4.
9. Sadchikov P.E. et al., *V praktiku pediatrii*, 2016, Vol. 13, No. 6, pp. 607–613. (In Russ.)
10. Garrels W. et al., One-step multiplex transgenesis via sleeping beauty transposition in cattle, *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, DOI: 10.1038/srep21953.
11. Ming Wang et al., Large-scale production of recombinant human lactoferrin from high-expression, marker-free transgenic cloned cows, *Scientific Reports*, 2017, Vol. 7, DOI:10.1038/s41598-017-11462-z.
12. Semak I. et al., Recombinant human lactoferrin from transgenic goats: isolation and physicochemical properties, *The Xth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and applications*, 08–12 May, 2011. Mazatlan, Mexico, P-VI-6, p. 74.
13. Budzevich A. et al., Recombinant human lactoferrin expressed in transgenic goats, *The Xth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and applications*, 08–12 May, 2011. Mazatlan, Mexico, O-VI-2, p. 66.
14. Semak I. et al., Development of dairy herd of transgenic goats as biofactory for large-scale production of biologically active recombinant human lactoferrin, *Transgenic Research*, 2019, Vol. 28, pp. 465–478.
15. Kljajevic N.V. et al., Seasonal variations of saanen goat milk composition and the impact of climatic conditions, *J. Food Sci. Technol.*, 2018, Vol. 55 (1), pp. 299–303.
16. Petrushko E.V. et al., *Zootehnicheskaya nauka Belarusi* (Zootechnical science of Belarus), Zhodino, 2016, Vol. 51 (2), pp. 208–216. (In Russ.).
17. Maga E.A. et al., Productions and processing of milk from transgenic goats expressing human 7 lysozyme in the mammary gland, *J. of Dairy Sci.*, 2006, Vol. 89 (2), pp. 518–524.