

Е.В. ПЕТРУШКО

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА В МОЛОКЕ ТРАНСГЕННЫХ КОЗ

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

Рекомбинантный лактоферрин, продуцируемый молочной железой трансгенных коз, по своей структуре и функциональной активности соответствует нативному белку, сохраняя все его биологические свойства. В многолетних исследованиях установлено некоторое воздействие генетической модификации и сезонных колебаний на состав молока трансгенных животных. Эти факторы необходимо учитывать при долгосрочном содержании молочного стада и разработке технологий переработки молока с определёнными биотехнологическими свойствами. В статье представлены результаты анализа сезонной динамики содержания рекомбинантного лактоферрина в молоке трансгенных коз в течение трёхлетнего периода мониторинга. В ходе исследований, проведённых в течение 2022-2024 годов, установлены выраженные сезонные колебания с тенденцией к снижению уровня белка в весенне-летний период. В 2022 году отмечена наименьшая вариабельность показателей (2,8-3,0 г/л) с минимальными отклонениями по сравнению с 2023 и 2024 гг. Установленные межсезонные различия свидетельствуют о влиянии поры года на синтез рЛФ.

Ключевые слова: концентрация белка, рекомбинантный лактоферрин, сезонные колебания, трансгенные козы

E.V. PETRUSHKO

SEASONAL DYNAMICS OF RECOMBINANT LACTOFERRIN CONCENTRATION IN MILK OF TRANSGENIC GOATS

*Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences
of Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Republic of Belarus*

Recombinant lactoferrin produced by the mammary gland of transgenic goats corresponds to the native protein in its structure and functional activity, retaining all its biological properties. Long-term studies have established some effect of genetic modification and seasonal variations on the composition of milk of transgenic animals. These factors must be considered in the long-term housing of a dairy herd and the development of technologies for processing milk with certain biotechnological properties. This paper contains the results of analyzing the seasonal dynamics of recombinant lactoferrin content in the milk of transgenic goats during a three-year monitoring

period. In the course of studies conducted during 2022-2024, pronounced seasonal variations with a tendency to decrease the protein level in the spring-summer period were established. In 2022, the lowest variability of indicators was observed (2.8-3.0 g/l) with minimal deviations compared to 2023 and 2024. The identified interseasonal differences indicate the influence of the season on the synthesis of rLF.

Key words: protein concentration, recombinant lactoferrin, seasonal variations, transgenic goats.

Введение. Лактоферрин (ЛФ) – это многофункциональный глико-протеин, обладающий широким спектром биологической активности. Его основные функциональные свойства включают: железосвязывающую способность, приводящую к подавлению роста бактерий за счёт лишения их необходимого микроэлемента (антибактериальный эффект) [1]; ингибирование вирусной адсорбции и проникновения в клетки-мишени (противовирусное действие) [2]; активацию иммунокомпетентных клеток, усиливающую неспецифическую резистентность организма (иммуномодулирующий эффект) [3]; снижение уровня провоспалительных цитокинов, что способствует купированию воспалительных процессов (противовоспалительные свойства) [4]; нейтрализацию реактивных форм кислорода, способность защищать клетки от окислительного повреждения (антиоксидантная активность) [5].

Лактоферрин является естественным компонентом биологических жидкостей млекопитающих, включая молоко, слезную жидкость, слюну, а также бронхиальный и желудочно-кишечный секреты. Кроме того, он присутствует на поверхности слизистых оболочек респираторного, репродуктивного и пищеварительного трактов, которые контактируют как с нормальной микрофлорой, так и с патогенными микроорганизмами, тем самым обеспечивает защиту организма от патогенов и участвует в регуляции иммунного ответа [6].

Несмотря на широкое распространение в организме, наибольшая концентрация лактоферрина (ЛФ) содержится в молоке. Его многофункциональные свойства стали основой для выделения из молока и в настоящее время мировой рынок лактоферрина демонстрирует устойчивый рост, что обусловлено увеличением спроса на функциональные продукты питания и пищевые добавки с его содержанием, а также достижениями в разработке методов выделения, очистки данного глико-протеина и технологий его получения [7].

Концентрация лактоферрина в коровьем молоке (bLF) варьирует в течение лактационного периода от 0,031 до 0,49 г/л у здоровых животных [8].

Современные молокоперерабатывающие заводы, специализирующиеся на производстве bLF, перерабатывают до 1 млн литров молока в сутки с выходом сухого порошка bLF порядка 100 кг. Такие объёмы

делают процесс масштабным и ресурсоёмким [9].

Более десяти лет назад в РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» было сформировано экспериментальное стадо трансгенных коз, экспрессирующих ген рекомбинантного лактоферрина (рЛФ) с концентрацией целевого белка в молоке, достигающей 6,0 г/л. Проведённые исследования подтвердили, что рекомбинантный лактоферрин, продуцируемый молочной железой трансгенных животных, по своей структуре и функциональной активности соответствует нативному белку, сохраняя все его биологические свойства [10].

Многолетние исследования физико-химических параметров молока выявили статистически значимые различия в его составе у трансгенных животных по сравнению с нетрансгенными аналогами. Установлено достоверное ($P < 0,05$) повышение массовой доли белка на 4-6 %, лактозы – на 2-6 %, сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО) – на 1-6 %, плотности – на 2-5 %, а также температуры замерзания – на 5 %. Параллельно зафиксировано снижение содержания жира на 5-8 % ($P < 0,05$). Наблюдаемые изменения демонстрировали выраженную сезонную динамику, достигая максимальных значений в осенне-зимний период как в группе трансгенных, так и в контрольной группе животных [11].

Проведённый анализ позволил заключить, что выявленные различия состава молока не носили критического характера и не оказывали негативного влияния на технологические свойства сырья. Вариации ключевых показателей находились в пределах физиологически обусловленных колебаний, характерных для молока сельскохозяйственных животных и соответствовали установленным нормативным требованиям.

Отдельно была проанализирована динамика концентрации рекомбинантного лактоферрина (рЛФ) в молоке трансгенных животных. Мониторинг содержания рЛФ показал, что минимальные значения (2,88-2,97 г/л) регистрировались в течение 1-2 кварталов, тогда как в 3-4 кварталах концентрация достигала 7,97 г/л [11].

В другом исследовании, охватывающем 10-месячный период, проводился мониторинг уровня рЛФ в сборном молоке трансгенных разновозрастных коз. Полученные данные продемонстрировали колебания концентрации белка в пределах 4,4-7,01 г/л, что служит дополнительным подтверждением выраженного влияния сезонного фактора на синтез рекомбинантного лактоферрина [12].

Приведённые данные свидетельствуют о некотором воздействии, как генетической модификации, так и сезонных колебаний, на состав молока трансгенных животных. Учёт этих факторов представляется необходимым при долгосрочном содержании молочного стада и

разработке технологий переработки молока с определёнными биотехнологическими свойствами. Кроме того, в стаде коз-производителей рЛФ происходит периодическое обновление поголовья. Отдельные особи выводятся из стада вследствие достижения предельного возраста или снижения продуктивности, тогда как другие переходят в старшие возрастные группы. Параллельно осуществляется введение молодых животных для поддержания численности и продуктивности стада. В связи с этим регулярный мониторинг содержания рекомбинантного лактоферрина в молоке коз-производителей является необходимым условием для эффективного выделения целевого белка.

Целью исследования явился анализ сезонной динамики содержания рекомбинантного лактоферрина в молоке трансгенных коз в течение трёхлетнего периода мониторинга.

Материал и методика исследований. Исследования проводились на Биотехнологическом научно-экспериментальном производстве по трансгенезу животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» в период с 2022 по 2024 год.

Объектом изучения было содержание рекомбинантного лактоферрина (рЛФ) в сборном молоке, полученном от здоровых коз-производителей рЛФ 1-5-й лактации.

Доение животных осуществлялось в доильном зале типа «бок-о-бок» (GEA Westfalia, Германия) с соблюдением стандартных зоотехнических и ветеринарно-санитарных норм. Гигиеническая обработка вымени осуществлялась до и после доения в соответствии с регламентированными требованиями.

Отбор проб молока для определения концентрации рЛФ проводился дважды в месяц. Молоко тщательно перемешивалось и фильтровалось после чего отбирались образцы объемом 1,5 мл. Пробы маркировались и помещались на хранение в холодильную камеру при температуре -18 °С. В течение каждого сезона было отобрано по 6 образцов, что составило 24 пробы в год.

Перед началом измерений пробы размораживались при комнатной температуре, перемешивались и центрифугировались с целью удаления жира.

Определение содержания рекомбинантного лактоферрина проводилось с использованием наборов ПРОДОСКРИН® (ГНУ «Институт биорганосинтеза НАН Беларуси», Республика Беларусь) с применением метода твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) на микропланшетном ридере Sunrice (Tecan, Австрия), измерение для каждого образца выполнялось в двух повторах.

Полученные результаты рассчитывались как среднее значение и ошибка средней и обрабатывались с применением статистического анализа на основе t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. В таблице представлены результаты исследований сезонной динамики концентрации рекомбинантного лактоферрина в сборном молоке трансгенных коз за период 2022-2024 гг.

Таблица – Средняя концентрация рекомбинантного лактоферрина в молоке трансгенных коз в зависимости от сезона года

Год исследования	Содержание рекомбинантного лактоферрина по сезонам года, г/л				
	зимний	весенний	летний	осенний	в среднем за год
2022	3,0±0,28	2,9±0,16	2,8±0,35	3,0±0,37	2,93±0,35
2023	3,11±0,26*	2,21±0,27	2,39±0,24	2,78±0,29	2,62±0,45
2024	2,6±0,20	2,54±0,30	2,33±0,22	2,81±0,20	2,57±0,36
Среднее значение по периодам	2,90±0,15*	2,55±0,20	2,51±0,15*	2,86±0,07*	-

Примечание: * $p < 0,05$ рассчитано для показателей зимнего и осеннего периодов относительно весеннего и летнего (парные сравнения, t-критерий Стьюдента). Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (SEM).

Данные таблицы свидетельствуют, что в 2022 году наблюдалась наибольшая стабильность концентрации лактоферрина по сравнению с последующими годами, с минимальными сезонными колебаниями в диапазоне 2,8-3,0 г/л. При этом в осенне-зимний период содержание рЛФ сохранялось на постоянном уровне (3,0 г/л), тогда как в весенне-летние месяцы отмечалось его снижение на 0,1-0,2 до 2,8-2,9 г/л. Среднегодовая концентрация в исследуемый период составила 2,93 г/л.

В 2023 году максимальная концентрация рЛФ была зарегистрирована в зимний период (3,11 г/л). В весенне-летний сезон наблюдалось достоверное снижение синтеза рЛФ на 0,72-0,9 г/л ($P < 0,05$) по сравнению с зимним периодом. Аналогичная тенденция к снижению (на 0,33 г/л относительно первого квартала) отмечалась и в осенний период. Среднегодовой показатель составил 2,62±0,45 г/л, что на 10,6 % (0,31 г/л) ниже, чем в 2022 году.

В 2024 году зафиксировано дальнейшее снижение среднегодовой концентрации рЛФ до 2,57±0,42 г/л, что на 12,3 % (0,36 г/л) меньше показателя 2022 года и на 1,9 % (0,05 г/л) ниже уровня 2023 года. Минимальные значения, как и в предыдущие годы, регистрировались в весенний (2,54 г/л) и летний (2,33 г/л) периоды, причём летний показатель 2024 года оказался минимальным за весь период наблюдений.

Таким образом, результаты проведённых исследований свидетельствуют о наличии статистически значимых сезонных колебаний в продукции рекомбинантного лактоферрина у трансгенных коз, характеризующихся выраженной тенденцией к снижению показателей в весенне-летний период. Полученные данные демонстрируют достоверные различия в средних значениях концентрации рЛФ между исследуемыми сезонами. Наименьший показатель зафиксирован в летний (2,51 г/л) период, тогда как в осенний (2,86 г/л) и зимний (2,9 г/л) сезоны наблюдалось статистически значимое увеличение продукции рекомбинантного белка ($P < 0,05$).

Заключение. Таким образом, в 2022 году наблюдалась наибольшая стабильность концентрации лактоферрина с минимальными сезонными колебаниями в диапазоне 2,8-3,0 г/л, при этом среднегодовой уровень составил 2,93 г/л, что свидетельствует о высокой устойчивости исследуемого показателя в данный период.

Установлено, что в 2023 году присутствовало снижение среднегодовой концентрации рЛФ на 10,6 % (2,62 г/л) по сравнению с 2022 годом. Диапазон содержания в году варьировал от 2,21 до 3,11 г/л, при этом наиболее выраженное снижение (на 0,72-0,9 г/л) наблюдалось в весенне-летний сезон.

В 2024 году среднегодовой уровень рЛФ достиг 2,57 г/л и был на 12,3 % ниже значений 2022 года. Диапазон концентраций находился на уровне 2,33-2,81 г/л, а минимальный показатель за весь период исследования (2,33 г/л) был зарегистрирован в летние месяцы.

Установлено, что сезонные колебания продукции рЛФ носили статистически значимый характер: наименьшие значения наблюдались весной и летом (2,51 г/л), а наибольшие – осенью и зимой (2,86-2,9 г/л) ($P < 0,05$).

Литература

1. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion / B. Wang, Y. P. Timilsena, E. Blanch [et al.] // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2019. – Vol. 59(4). – P. 580-596. – DOI: 10.1080/10408398.2017.1381583.
2. The in vitro antiviral activity of lactoferrin against common human coronaviruses and SARS-CoV-2 is mediated by targeting the heparan sulfate co-receptor / Y. Hu, X. Meng, F. Zhang [et al.] // *Emerg. Microbes Infect.* – 2021. – Vol. 10. – P. 317-330. – DOI: 10.1080/22221751.2021.1888660.
3. Superti, F. Lactoferrin from Bovine Milk: A Protective Companion for Life / F. Superti // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12(9). – P. 2562. – DOI: 10.3390/nu12092562.
4. Lactoferrin: Balancing Ups and Downs of Inflammation Due to Microbial Infections / M. E. Drago-Serrano, R. Campos-Rodríguez, J. C. Carrero [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18. – P. 501. – DOI: 10.3390/ijms18030501.
5. Antioxidant Potential of Lactoferrin and Its Protective Effect on Health: An Overview / Q. Rascón-Cruz, T. S. Siqueiros-Cendón, L. I. Sianéiz-Estrada [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – Vol. 26(1). – P. 125. – DOI: 10.3390/ijms26010125.

6. The lactoferrin phenomenon – a miracle molecule / P. Kowalczyk, K. Kaczyńska, I. Bukowska-Ośko [et al.] // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – P. 2941. – DOI: 10.3390/molecules27092941.

7. Lactoferrin Market By Application, Form, Source, and End-use – Global Forecast to 2030 // *Market&Market*. – URL: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/lactoferrin-market-91627561.html> (date of access: 10.02.2025).

8. Factors Affecting the Lactoferrin Concentration in Bovine Milk / J. B. Cheng, J. Q. Wang, D. P. Bu [et al.] // *Journal of Dairy Science*. – 2008. – Vol. 91(– P. 970-976. doi: 10.3168/jds.2007-0689.

9. Current practices with commercial scale bovine lactoferrin production and alternative approaches / E. Krolitzki, S.P. Schwaminger, M. Pagel [et al.] // *International Dairy Journal*. – 2022. – Vol. 126. – DOI: 10.1016/j.idairyj.2021.105263

10. Получение рекомбинантного лактоферрина человека из молока коз-производителей и его физиологические эффекты / В. С. Лукашевич, А. И. Будевич, И. В. Семак [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2016. – Т. 60, № 1. – С. 72–81.

11. Влияние сезона года и лактации на состав молока коз–производителей биоаналога лактоферрина человека / А. И. Будевич, Е. В. Петрушко, Д. М. Богданович [и др.] // *Вестник НГАУ*. – 2021. - № 1. – С. 81-91.

12. Мониторинг уровня продукции рекомбинантного лактоферрина человека в молоке генномодифицированных коз при длительной лактации / Е. В. Петрушко, Д. М. Богданович, А. И. Будевич [и др.] // *Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2020. – Т. 55, ч. 2. – С. 255-262.*

Поступила 26.03.2025 г.

УДК 631.223.6:631.671

И.И. РУДАКОВСКАЯ, Д.Н. ХОДОСОВСКИЙ, В.А. БЕЗМЕН,
А.С. ПЕТРУШКО, А. А. ХОЧЕНКОВ, А.Н. СОЛЯНИК

ОПТИМИЗАЦИЯ ВОДОПОТРЕБЛЕНИЯ В СЕКЦИИ ОПОРОСОВ

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

Наряду с кормлением, определяющим фактором, влияющим на продуктивность свиноматок, является снабжение их на всех стадиях репродуктивного цикла чистой доброкачественной питьевой водой нужной температуры и в нужном количестве. При содержании свиноматок в условиях промышленного предприятия значительные объёмы воды расходуются на технологические нужды. Перерасход воды приводит к увеличению затрат на утилизацию навозных стоков, повышается экологическая нагрузка от функционирования свиноводческого предприятия. В этой связи особую актуальность приобретают вопросы снижения затрат воды на технологические нужды, которые превосходят потребности на поение свиней, что и стало целью научной работы. В ходе исследований установлены нормативы расхода воды при жидком типе кормления у