

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Научная статья
УДК 612.664.14

АНАЛИЗ АНТИГЕННОЙ СТРУКТУРЫ КАЗЕИНОВЫХ БЕЛКОВ МОЛОКА

*Денис Николаевич Дроздов¹, Анна Александровна Суднеко²,
Ольга Николаевна Купченко³*

*^{1,2} Гомельский государственный университет имени Франциска
Скорины, Республика Беларусь, Гомель, улица Советская, 108,
biofac@gsu.by*

Аннотация. Особенности структуры и физико-химические свойства белков молока определяют их иммунореактивные особенности. Казеин является одним из основных аллергенов, которые даже в небольших концентрациях вызывают сенсibilизацию у 35-50% людей. В этой связи научно-практическое значение имеет анализ антигенных детерминант казеиновых белков молока человека и некоторых сельскохозяйственных животных. В данной статье были рассмотрены и оценены идентичности последовательностей α S1-казеина молока человека, коровы и козы.

Ключевые слова: казеин, казеиновые белки, аллергическая реакция, антигенные детерминанты, аминокислотные последовательности, банк данных *UniProt*

Для цитирования: Дроздов Д.Н., Суднеко А.А., Купченко О.Н. Анализ антигенной структуры казеиновых белков молока // Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы. Серия: Естественные науки. 2024. № 2. С. 126-132.

BIOLOGICAL SCIENCES

Original article

ANALYSIS OF THE ANTIGENIC STRUCTURE OF MILK CASEIN PROTEINS

*Denis Nikolaevich Drozdov¹, Anna Alexandrovna Sudneko² Olga
Nikolaevna Kupchenko³*

*^{1,2} Francysk Skaryna Gomel State University, Republic of Belarus,
Gomel, sudneko.a@yandex.ru*

Abstract. The structural features and physico-chemical properties of milk proteins determine their immunoreactive features. Casein is one of the main allergens that, even in small concentrations, cause sensitization in 35-

50% of people. In this regard, the analysis of antigenic determinants of casein proteins in human milk and some farm animals is of scientific and practical importance. In this article, the identities of the sequences of human, cow and goat milk α S1-casein were considered and evaluated.

Keywords: casein, casein proteins, allergic reaction, antigenic determinants, amino acid sequences, UniProt data bank

For citing: Drozdov D.N., Sudneko A.A., Kupchenko O.N. Analysis of the antigenic structure of milk casein proteins // Bulletin of Bashkir State Pedagogical University named after M. Akmulla. Series: Natural Sciences. 2024. No 2. pp. 126-132.

Молоко является важной частью пищевого рациона человека. В Республике Беларусь молокоперерабатывающие предприятия производят разнообразный ассортимент продукции, в которой доля цельномолочных продуктов занимает 78%, сливочное масло – 5%, творог и творожные изделия – 5%, сыры – 9%, сгущенные сливки – 3%. Молочные продукты обеспечивают население незаменимыми продуктами питания, являются источником белка, витаминов, минеральных элементов. Вместе с тем молоко содержит 20 белков, обладающих способностью оказывать аллергическое действие на организм человека [1]. В спектр белковой фракции молока входят α S1-, α S2-казеин, χ -казеин, β -казеин, α -лактальбумин, β -лактоглобулин, γ -глобин и лактоферин [2]. Современные исследования, например [3], показывают, что симптомы аллергии возникают при употреблении коровьего молока у 17,5% детей дошкольного возраста, 13,5% детей в возрасте 6-16 лет и у 5% взрослого населения планеты. Исследования [4-6] связывают использование коровьего молока в раннем возрасте с возникновением симптомов атопического дерматита, аллергического ринита и бронхиальной астмы.

Основным сывороточным белком женского молока является фракция β -(3-4 г/л) и κ -казеина (1-2 г/л). В спектре белковой фракции коровьего молока 75–80% белков приходится на долю казеина [7]. В отношении этой белковой фракции нет одного мнения, позволяющего оценить ее антигенные качества. Казеиновый белок молока видонеспецифичен, состоит из четырех термостабильных белков, устойчивых в кислой среде. При аллергии к нему возможна повышенная чувствительность, как при непосредственном употреблении молока других животных, так и к молочным продуктам, например, к сырам. Антигенные свойства не теряются при кипячении, поэтому при наличии сенсибилизации к казеину возникает опасность развития иммунной реакции. Аллергия на казеин может проявляться нарушением функции желудочно-кишечного тракта, кожной патологией в форме дерматита, крапивницы, отека Квинке, реже аллергическим ринитом и бронхиальной астмой.

Казеин коровьего молока представляет собой крупный белок (19-25 кДа) с малоупорядоченной структурой и значительным числом вторичных и третичных структур, состоит из фракции α S1-, α S2-, β -, κ -казеина, в постоянном соотношении 37:13:37:13 соответственно. Фракции казеина формируют мицеллярную структуру, в которой рассматривают центральную гидрофобную и периферическую гидрофильную части. Исследования показывают возможность сенсибилизации к каждой фракции, но разной интенсивностью IgE-ответа к ним, в связи с наличием разных антигенных детерминант. Сенсибилизация к α S1-, α S2-казеинам отмечается у всех пациентов с аллергией к коровьему молоку, к β -казеину – у 91,7%, к κ -казеину только у 66,7% пациентов [8].

В качестве материала использовали аминокислотные последовательности α S1-казеина человека (*Homo sapiens*), коровы (*Bos taurus*), козы (*Capra hircus*) банка данных UniProt. Методика парного выравнивания выполнена в компьютерном редакторе JalView 2.11.2.7, представляла поиск оптимального соответствия аминокислот между парами, учитывая длину последовательности. В основе парного выравнивания использовался алгоритм Needleman-Wunsch. Процедура множественного выравнивания аминокислотных последовательностей выполнена с помощью программы ClustalW Европейского института биоинформатики, размещенной на сайте <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>.

Казеин молока обозначенных видов имеет отличия в количестве фракций, электрофоретической подвижности в полиакриламидном геле и аминокислотном составе. Соотношение аминокислот казеина женского молока указывает на его сходство с козьим молоко и на различие с коровьим казеином. Указанное свойство позволяет предположить большую усвояемость пепсина козьего, чем казеина коровьего молока [9]. Антигенные детерминанты коровьего и козьего казеина IgE-связывающих эпитопов, полученные методом SPOT-теста, представлены в работе [10]. В таблице 1 приведен перечень позиций в аминокислотных последовательностях α S1-, β -, κ -казеина.

Таблица 1.

Антигенные детерминанты коровьего и козьего казеина

Белок	Перечень позиций эпитопов
α S1-казеин	17-36, 39-48, 69-78, 83-102, 109-120, 123-132, 139-154, 159-173, 174-194
β -казеин	1-16, 45-54, 55-70, 83-92, 107-120, 135-144, 149-164, 167-184, 185-208

к-казеин	9-26, 21-44, 47-68, 67-78, 95-116, 111-126
----------	--

Из таблицы 1 видно, что в структуре α S1-казеина имеется 9 антигенных детерминант, средний размер участка составляет 14 а.о. (а.о. – аминокислотный остаток), минимальный размер участка последовательности составляет 9 а.о., максимальный размер участка последовательности 20 а.о. В структуре β -казеина также имеется 9 антигенных детерминант, средний размер 14 а.о., минимальный размер участка последовательности составляет 9 а.о., максимальный размер участка последовательности 23 а.о. В структуре к-казеина имеется 6 антигенных детерминант, средний размер 18 а.о., минимальный размер участка последовательности составляет 11 а.о., максимальный размер участка последовательности 23 а.о.

В процессе анализа аминокислотных последовательностей методом множественного выравнивания исходили из того, что третичная структура белка зависит от характера аминокислотной последовательности и наличия гидрофобных алифатических аминокислот (Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I)). Нахождение этих аминокислот в области антигенной детерминанты влияет на аффинитет паратопа иммуноглобулина. Методом множественного выравнивания получены 9 аминокислотных последовательностей антигенных детерминант относительно которых проводили анализ. В таблице 2 представлены антигенные детерминанты α S1-казеина молока человека, видов *Bos taurus* и *Capra hircus*.

Таблица 2

Антигенные детерминанты α S1-казеина молока

№	<i>Bos taurus</i>	<i>Capra hircus</i>	<i>Homo sapiens</i>
1	khpikhqglpqevlnenll	khpinhrglspevpnenll	klplryperlqnpssesep
2	fvapfpvfv	vvapfpvfv	lesreeymn
3	medikqmea	medakqmka	nestqncvv
4	seeivpnsveqkhiqkedv	seeivpnsaeqkyiqkedv	messissseemslsk---
5	gyleqlrlkk	gyleqlrlkk	caeqfcrln
6	vpqleivpn	vpqleivpk	-qlqlqaa
7	hsmkegihaqqkepm	hsmkegnpahqkqpm	rrmnenshvqvp---
8	qelayfypelfrqfy	qelayfypqlfrqfy	-----fqqln
9	ldaypsgawyyvplgtqytda	ldaypsgawyyplgtqytda	laaypyavwyupqimqyvpf

Анализ аминокислотной последовательностей показал общую идентичность α S1-казеина молока человека, коровы и козы 42,35 %. Идентичность участка 17-36 последовательности α S1-казеина молока человека и коровы составляет 17,7%, из них 26% аминокислот α S1-

Идентичность участка 139-154 составляет 73,3%, из них 7,0% аминокислот α S1-казеина козьего молока включают гидрофобных алифатических аминокислоты, увеличивающие степень антигенности. Идентичность участка 159-173 составляет 40,0%, из них 20% аминокислот α S1-казеина козьего молока включают гидрофобных алифатических аминокислоты, увеличивающие степень антигенности. Идентичность участка 174-194 составляет 45,0%, из них 29% аминокислот α S1-казеина козьего молока включают гидрофобных алифатических аминокислоты, увеличивающие степень антигенности.

Исходя из результата анализа последовательностей α S1-казеина молока человека и молока видов *Bos taurus* и *Capra hircus* установлено, что близкую структуру аминокислотных последовательностей имеют участки 139-154, 159-173 и 174-194, которые в среднем на 40% совпадают с последовательностью α S1-казеина молока человека. Остальные антигенные детерминанты отличаются низкой идентичностью и большим эволюционным расстоянием, содержание дисфункциональных замен в виде гидрофобных алифатических аминокислот, увеличивает антигенные свойства участка 123-132 в молоке *Bos Taurus*; участка 123-132 в молоке *Capra hircus*. Таким образом, антигенные свойства молока *Bos Taurus* и *Capra hircus* для α S1-казеина выражены в равной степени.

REFERENCES

1. Allergy to cow's milk proteins in childhood: the author's personal experience and new diagnostic and therapeutic proposals / G. Cavagni [et al.] // *Pediatr. Med. Chir.* – 1994. – Vol. 16, № 5. – pp. 413–419.
2. Taylor, S.L. Immunologic and allergic properties of cow's milk proteins in humans / S.L. Taylor // *J. Food Prot.* – 1986. – Vol. 49, № 3. – pp. 239–250.
3. Roehr C.C., Edenharter G., Reimann S. et al. Food allergy and non-allergic food hypersensitivity in children and adolescents // *Clin. Exp. Allergy.* 2004. V. 34. pp. 1534-1541.
4. Illi S., Von Muttius E., Lau S. et al. The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and association with asthma // *J. Allergol. Clin. Immunol.* 2004. V. 113. pp. 925-938.
5. Roberts G., Patel N., Levi-Schaffer F. et al. Food allergy as a risk-factor of life-threatening asthma in childhood a casecontrolled study // *J. Allergol. Clin. Immunol.* 2003. V. 112. pp. 168-174.
6. Milk allergy. I. Oral challenge with milk and isolated milk proteins in allergic children / A.S. Goldman [et al.] // *Pediatrics.* – 1963. – Vol. 32. – pp. 425-443.
7. Monaci L., Tregoaat V., van Hengel A.J. et al. Milk allergens, their characteristics and their detection in food: A review // *Eur. Food Research Tech.* 2006 V. 223 (2). pp. 149-179.

8. Bernard H., Creminon C., Yvon M. et al. Specificity of the human IgE response to the different purified caseins in allergy to cow's milk proteins // Int. Arch. Allergy Immunol. 1998. V. 115, № 3. pp. 235-244.

9. El-Agamy, E.I. Nutritive and immunological values of camel milk: a comparative study with milk of other species / E.I. El-Agamy, M.A. Nawar // In: Second International Camelid Conference: Agroecconomics of Camelid Farming, Almaty, Kazakhstan. – 8 – 12 September, 2000. – pp. 33-45.

10. Lisson M.M., Novak N., Erhardt G. Immunoglobulin E epitope mapping by microarray immunoassay reveals differences in immune response to genetic variants of caseins from different ruminant species. J Dairy Sci. 2014; Vol. 97 (4): 1939 – 54.

Информация об авторах

Д.Н. Дроздов – кандидат биологических наук, доцент;

А.А. Судненко – старший преподаватель;

О.Н. Купченко – старший преподаватель.

Information about authors

D.N. Drozdov – Candidate of Sciences. Biol. sciences, Associate Professor;

A.A. Sudnenko – senior. teacher;

O.N. Kupchenko – senior teacher.

Статья поступила в редакцию 07.06.2024; принята к публикации 24.06.2024.

The article was submitted 07.06.2024; accepted for publication 24.06.2024.