

**Государственное автономное образовательное учреждение
дополнительного профессионального образования Владимирской области
«Владимирский институт развития образования имени Л.И. Новиковой»,
детский технопарк "Кванториум-33".**

**Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение
города Коврова «Средняя общеобразовательная школа № 21
имени Владимира Григорьевича Фёдорова»**

Определение взаимосвязи между полиморфизмом каппа-казеина и пригодностью коровьего молока для сыроделия

Автор:
Бадаев Фёдор Дмитриевич,
11А класс

Руководитель:
Котова Мария Викторовна,
учитель биологии МБОУ СОШ №21.

Научный руководитель:
Кокина Дарья Николаевна,
педагог дополнительного образования
детского технопарка «Кванториум - 33»

г. Ковров Владимирской области

2026 год

Содержание

1. Введение.....	3
2. Теоретическая часть.....	5
2.1. Биологическая роль каппа-казеина.....	5
2.2. Сыропригодные качества молока различных генотипов.....	6
2.3. Подходы к генетическому анализу каппа-казеина.....	7
2.4. Лучшие породы коров для производства сыров.....	8
3. Практическая часть.....	9
3.1. Получение сыров.....	9
3.2. Теоретический план по конструированию экспрессионного плазмидного вектора pET-22b со вставкой гена CSN3 методом направленного клонирования по сайтам NdeI/XhoI и последующей трансформации *E. coli*.....	11
3.2.1. Общая информация.....	11
3.2.2. Логика конструкции и элементы вектора	12
3.2.3. Последовательность выполнения работы.....	13
4. Выводы.....	17
5. Заключение.....	18
6. Используемые источники.....	19

1. Введение

Молоко и молочные продукты занимают важное место в рационе современного человека. Среди них особой пищевой ценностью отличаются сыры, качество которых во многом определяется составом молочного белка - казеина. Важную роль в формировании структуры и консистенции сыра играет каппа-казеин, обеспечивающий устойчивость казеиновых мицелл и свёртываемость молока под действием сычужных ферментов. Известно, что полиморфизм гена CSN3, кодирующего каппа-казеин, влияет на технологические свойства молока, его пригодность к коагуляции и выход готового сыра.

В условиях развития биотехнологий особую актуальность приобретает изучение генетических вариантов каппа-казеина и создание лабораторных моделей для их анализа. Методы молекулярной биологии позволяют не только выявлять хозяйственно-ценные генотипы у животных, но и моделировать экспрессию белков в клеточных системах для последующего исследования их свойств. Разработка плазмидных конструкций, пригодных для продукции каппа-казеина в клетках *E. coli*, открывает возможность детального изучения структуры, функций и влияния белка на технологические характеристики молока.

Настоящая работа выполнена в 2024–2025 учебном году на базе детского технопарка «Кванториум- 33» ГАОУ ДПО ВО ВПО и представляет собой теоретический план по созданию экспрессионной плазмиды для продукции каппа-казеина, а также сравнительный анализ современных методов генетического скрининга коров. Цель исследования — разработать теоретическую схему получения рекомбинантного белка каппа-казеина в системе *E. coli* и провести анализ подходов, применяемых для выявления хозяйственно-ценных вариантов гена CSN3. Предполагается, что такая схема позволит использовать полученный белок для моделирования свойств молока различных генотипов и верификации результатов генетических исследований.

В ходе работы планируется определить гаплотипы, ассоциированные с технологическими качествами молока, рассмотреть методы разработки и проверки плазмидных конструкций, а также сравнить основные подходы к генетическому анализу гена CSN3. Полученные результаты могут быть применены при создании отечественных систем генетического тестирования крупного рогатого скота и при дальнейших исследованиях, направленных на улучшение качества молока и сыропригодности.

Цель работы:

Изучить взаимосвязь между полиморфизмом каппа-казеина и пригодностью коровьего молока для сыроделия и создать теоретический план по созданию экспрессионного плазмидного вектора pET-22b со вставкой гена CSN3

методом направленного клонирования по сайтам NdeI/XhoI и последующей трансформации *E. coli*.

Задачи работы:

- 1) Определить гаплотип, ассоциированный с пищевыми и технологическими качествами молока, подходящего для производства сычужных сыров.
- 2) Экспериментально оценить влияние содержания и генетических форм каппа-казеина на процесс ферментативной коагуляции молока и выход сыра путём изготовления адыгейского сыра из молока голштинской, джерсейской и костромской пород коров в одинаковых технологических условиях.
- 3) Провести сравнительный анализ методов скрининга коров на наличие в их генотипе хозяйственно-ценных генетических вариантов гена, кодирующего каппа-казеин.
- 4) Разработать теоретический план по созданию плазмиды для продукции каппа-казеина в E. coli и предложить методы её верификации.

2. Теоретическая часть

2.1. Биологическая роль каппа-казеина

Каппа-казеин - одна из фракций казеина, молочного белка. Это единственная фракция казеина, которая разрушается под действием сычужного фермента и способна стабилизировать казеиновый комплекс молока.

Простыми словами, каппа-казеин - это белок в молоке, который помогает ему сворачиваться и образовывать плотный сгусток, что необходимо для производства сыра.

Ген каппа-казеина есть у коров всех пород: как мясных, так и молочных. Он представлен тремя генотипами: АА, АВ и ВВ. Последний генотип при правильном кормлении и содержании животных даёт нужное качество сырья [7].

Изучение полиморфизма гена каппа-казеина позволяет проводить селекцию животных на основе желаемых генотипов для улучшения молочной продуктивности и качества молока, а также способствует оптимизации производства молочных продуктов.

Известно, что идеальным сырьём для переработки молока в сыр является молоко с каппа-казеином генотипа ВВ. С точки зрения генетики, какая именно форма белка каппа-казеина будет в молоке, определяет один ген, который так и называется – ген каппа-казеина [5].

2.2. Сыропригодные качества молока различных генотипов

Сыропригодные качества молока тесно связаны с генотипом животного.

С точки зрения переработки, молоко с каппа-казеином формы А не подходит для производства сыра, а вот молоко со смесью форм каппа-казеина А и В и молоко с каппа-казеином только В - как раз именно то, что нужно для производства сыра.

Было выяснено, что генотип ВВ имеет превосходство по сравнению с АА и АВ по выходу готовой продукции, технологическим свойствам молока, содержанию белка, сухого вещества и лактозы.

Некоторые результаты исследований:

- Содержание кальция: в молоке коров с генотипом ВВ его больше, чем в молоке коров с генотипами АА и АВ.
- Соотношение сгусток - сыворотка: в молоке коров генотипа АА доля казеинового сгустка сокращается на 8%, генотипа АВ — на 3%.
- Степень зрелости сыра: наиболее высокая степень зрелости отмечена у сыров из молока коров с генотипом ВВ, а самая низкая - с генотипом АА.

Результаты исследования позволили установить, что лучшим сырьём для производства твёрдых сортов сыра является молоко с содержанием казеина 2,71-2,80%, сывороточных белков не более 0,65%, кальция 131,4 мг%, фосфора 10,6% [2].

Снижение содержания казеина в молоке приводит к увеличению продолжительности свёртывания под действием сычужного фермента, ухудшению качества казеинового сгустка, увеличению потерь питательных веществ при обработке сгустка, снижению интенсивности биохимических процессов при созревании сыра и, как следствие, ухудшение его вкусовых качеств.

Результаты исследования по времени свертываемости молока:

- Наибольшее среднее время свёртывания было присуще молоку от коров с генотипом АА — 51,5 минут.
- Пробы группы АВ свёртывались в среднем за почти 37 минут [8].
- Пробы группы ВВ характеризовались в среднем самым быстрым временем свёртывания — 32 минуты [8].

Таким образом, было подтверждено, что наличие в генотипе аллеля В ускоряет свёртывание молока под воздействием фермента.

2.3. Подходы к генетическому анализу каппа-казеина

Существует несколько подходов к генетическому анализу каппа – казеина:

- SNP-генотипирование. Считается подходящим методом для скрининга коров на каппа-казеин, так как обеспечивает баланс между стоимостью, скоростью и глубиной анализа.
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР). С её помощью оценивают полиморфизм гена каппа-казеина. Для исследований отбирают пробы крови у животных.
- Метод маркерной селекции. Позволяет выявить генотипы каппа-казеина, из которых у крупного рогатого скота наиболее часто встречаются два варианта - А и В, в трёх сочетаниях генотипов - АА, АВ, ВВ.
- Метод AFLP. Позволяет одновременно получить несколько десятков фрагментов, некоторые из которых будут полиморфными, то есть отличаться у разных животных.

Каппа-казеин в производстве сыра играет ключевую роль в формировании структуры и качества конечного продукта. Этот белок, составляющий около 13% от общего количества казеинов в коровьем молоке, отвечает за стабильность казеиновых мицелл и их способность к коагуляции под воздействием сычужного фермента или кислот [3].

Процесс сыроделия начинается с дестабилизации мицелл каппа-казеина. Сычужный фермент, содержащий химозин, гидролизует каппа-казеин, расщепляя его на пара-каппа-казеин и макропептид. Пара-каппа-казеин, в отличие от своего предшественника, не обладает способностью стабилизировать мицеллы, что приводит к их агрегации и образованию сгустка.

Скорость и прочность этого сгустка напрямую зависят от генетического полиморфизма каппа-казеина. Наиболее распространенные варианты - А и В. Молоко с генотипом ВВ образует более плотный и прочный сгусток, что благоприятно сказывается на выходе сыра и его текстуре. Использование молока с преобладанием В-варианта позволяет сократить время коагуляции и получить сыр с желаемой структурой.

Кроме того, каппа-казеин влияет на синерезис – отделение сыворотки от сгустка. Определенный уровень гидролиза каппа-казеина способствует оптимальному синерезису, что предотвращает образование излишне влажного сыра [9]. Контроль этого процесса – важный этап в производстве многих сортов сыра, определяющий их вкус, текстуру и срок хранения.

Таким образом, понимание роли каппа-казеина и его генетических вариантов позволяет производителям сыра оптимизировать технологический процесс и получать продукт с заданными характеристиками.

2.4. Лучшие породы коров для производства сыров

Выбор породы коров для производства сыра - ключевой фактор, определяющий вкус, текстуру и аромат конечного продукта. Разные породы дают молоко с разным составом жира, белка и казеина, что напрямую влияет на характеристики сыра.

Голштинская порода: Эта порода славится своей высокой молочной продуктивностью. Однако, молоко этой породы содержит относительно низкий процент жира и белка, что делает его менее пригодным для производства выдержанных твердых сыров. Его чаще используют для мягких сыров, таких как моцарелла и рикотта, где важен объем, а не концентрация вкуса [11].

Джерсейская порода: Джерсейское молоко, напротив, отличается высоким содержанием жира и белка, что идеально подходит для производства богатых и сливочных сыров. Из него получаются превосходные чеддер, гауда и другие твердые сыры с выраженным вкусом и маслянистой текстурой.

Айрширская порода: Молоко айрширской породы характеризуется сбалансированным содержанием жира и белка, что делает его универсальным для производства различных видов сыра. Из него получаются как мягкие, так и твердые сыры с хорошим вкусом и текстурой [4].

Костромская порода отличается высокой сыропригодностью молока. По результатам исследований 2010 года, молоко коров костромской породы по сычужно-бродильной пробе было отнесено к 1-му (хорошему) классу.

Ярославская порода считается одной из лучших отечественных пород по показателю сыропригодности. Среди преимуществ породы — высокая жирность молока (более 4,0%) и высокое содержание белка (3,4–3,7%) [11].

3. Практическая часть

3.1 Получение сыров.

В рамках работы были получены сыры из молока костромской, голштинской и джерсейской породы коров для подтверждения влияния каппа-казеина на плотность, количество и консистенцию сыра.

В рамках выполнения проекта была проведена практическая работа, направленная на экспериментальное подтверждение влияния генетических особенностей молочного белка, в частности к-казеина, на процесс сыроделия и выход готового продукта.

Цель практической работы заключалась в экспериментальной проверке гипотезы о том, что количество и форма к-казеина в молоке коров различных пород оказывают прямое влияние на эффективность ферментативной коагуляции молока и, как следствие, на выход сыра.

В теоретической части проекта было показано, что к-казеин играет ключевую роль в стабилизации казеиновых мицелл, определяет их поведение при действии молокосвёртывающих ферментов и напрямую влияет на плотность, прочность и структуру образующегося сгустка. Следовательно, различия в содержании и генетических вариантах к-казеина должны отражаться на практических показателях сыроделия.

Для проведения практической работы использовалось молоко трёх пород крупного рогатого скота:

- * голштинской,
- * джерсейской,
- * костромской.

Выбор данных пород был обусловлен различиями в общем содержании белка и жира в молоке, а также разной частотой благоприятных аллельных вариантов гена CSN3 (к-казеина), что было подробно рассмотрено в аналитической части проекта.

Для обеспечения сопоставимости результатов все эксперименты проводились при одинаковых технологических условиях и с одинаковым объёмом исходного сырья.

Из молока каждой породы был изготовлен адыгейский сыр. Объём молока для каждого опыта составлял 5 литров.

На первом этапе молоко нагревалось до температуры 32 °С, что соответствует оптимальным условиям для действия молокосвёртывающих ферментов и обеспечивает корректное протекание ферментативной коагуляции.

В качестве молокосвёртывающего фермента использовался говяжий пепсин. После добавления фермента молоко выдерживалось в течение 1,5 часов до образования плотного коагуляционного сгустка.

Сформированный сгусток разрезался ножом на кубики размером примерно 2×2 см. Данный приём применялся для интенсификации отделения сыворотки и формирования зерна. После разрезания сгусток выдерживался в течение 20 минут.

Далее в сырную массу добавлялось 125 г йодированной соли, после чего масса аккуратно перемешивалась и выдерживалась ещё 10 минут. Затем осуществлялось отделение сыворотки путём процеживания через мелкое сито.

Полученная сырная масса раскладывалась по формам. Через 15 минут сыр переворачивался для формирования равномерной структуры и рисунка с обеих сторон. После этого сыр выдерживался в течение 12 часов, по истечении которых продукт считался готовым.

В ходе эксперимента был получен сыр различной массы в зависимости от породы коров:

- * масса сыра из молока голштинской породы — 1271 г;
- * масса сыра из молока джерсейской породы — 2092 г;
- * масса сыра из молока костромской породы — 2311 г.

Различия в выходе готового продукта свидетельствуют о неодинаковой эффективности ферментативной коагуляции молока разных пород.

Полученные результаты подтверждают теоретические выводы проекта о том, что количество и форма κ-казеина в молоке оказывают существенное влияние на процесс сыроделия. Более высокое содержание κ-казеина и наличие благоприятных его вариантов способствуют формированию более плотного и устойчивого коагуляционного сгустка, лучшему удержанию белка в сырной массе и, как следствие, увеличению выхода готового продукта.

В ходе практической работы было установлено, что наибольший выход сыра был получен из молока джерсейской породы. Это полностью согласуется с теоретической частью исследования, в которой отмечалось повышенное содержание белка и более высокая частота благоприятных вариантов гена CSN3 у данной породы.

Таким образом, практическая работа экспериментально подтвердила выдвинутую гипотезу проекта и показала, что джерсейская порода коров является наиболее перспективной и наиболее пригодной для сыроделия среди рассмотренных пород.

3.2 Теоретический план по конструированию экспрессионного плазмидного вектора pET-22b со вставкой гена CSN3 методом направленного клонирования по сайтам NdeI/XhoI и последующей трансформации *E. coli*

3.2.1. Общая информация

В данной работе представлено теоретическое обоснование и разработка схемы создания рекомбинантного экспрессионного плазмидного вектора pET-22b::CSN3, предназначенного для синтеза белка каппа-казеина (CSN3) в клетках *Escherichia coli*.

Работа включает последовательное описание всех этапов — от амплификации целевого гена с добавлением сайтов рестрикции NdeI и XhoI до лигирования его во вектор pET-22b и последующей трансформации бактерий *E. coli*.

Работа носит теоретический характер и отражает полную логическую структуру эксперимента — выбор ферментов, построение конструкции, контрольные этапы и методы верификации.

Разработанная схема позволяет смоделировать процесс получения экспрессионной системы, обеспечивающей T7-зависимую экспрессию гена CSN3 с C-концевым His-тегом для дальнейшей аффинной очистки белка.

Таким образом, практическая часть представляет собой пошаговое теоретическое решение задачи по созданию плазмидной конструкции, пригодной для получения рекомбинантного белка каппа-казеина в бактериальной системе экспрессии.

Работа над практической частью проекта была начата 8 ноября 2024 года в рамках подготовки к участию во Всероссийской олимпиаде по агрогенетике «ИННАГРИКА». Задачей кейса являлась разработка решения, направленного на увеличение количества каппа-казеина в молоке за счёт применения методов молекулярной биологии.

В качестве теоретического решения была предложена схема создания экспрессионного плазмидного вектора pET-22b::CSN3, обеспечивающего эффективную продукцию белка каппа-казеина в клетках **Escherichia coli** (см. рисунок 1). Выбор вектора pET-22b был обусловлен его оптимальными свойствами: наличием промотора T7, обеспечивающего высокий уровень экспрессии, C-концевого His-тега, упрощающего аффинную очистку белка, и встроенного lac-оператора, позволяющего точно регулировать процесс индукции.

Таким образом, использование конструкции pET-22b::CSN3 рассматривалось как рациональный подход к моделированию процесса синтеза каппа-казеина и изучению факторов, влияющих на его количество и качество в молоке.

3.2.2 Логика конструкции и элементы вектора

Перед началом работы необходимо изучить устройство экспрессионного вектора pET-22b, который включает следующие функциональные элементы:

- 1) T7-промотор – обеспечивает транскрипцию гена-мишени с помощью T7-РНК-полимеразы.
- 2) lac-operator – регулирует экспрессию, позволяя индуцировать синтез белка добавлением IPTG.
- 3) His-tag (С-конец) – обеспечивает возможность аффинной (Ni-NTA) очистки белка.
- 4) Ori (origin of replication) – отвечает за репликацию плазмиды в бактериальной клетке.
- 5) AmpR (ген устойчивости к ампициллину) – служит для селекции трансформантов.
- 6) MCS (многофункциональный участок клонирования) – содержит сайты рестрикции NdeI (CATATG) и XhoI (CTCGAG) для направленного вставления фрагмента.

Целевой ген CSN3 необходимо амплифицировать с добавлением к его концам сайтов NdeI (5'-конец) и XhoI (3'-конец), что обеспечит правильную ориентацию вставки и сохранение рамки считывания.

Генетическая конструкция

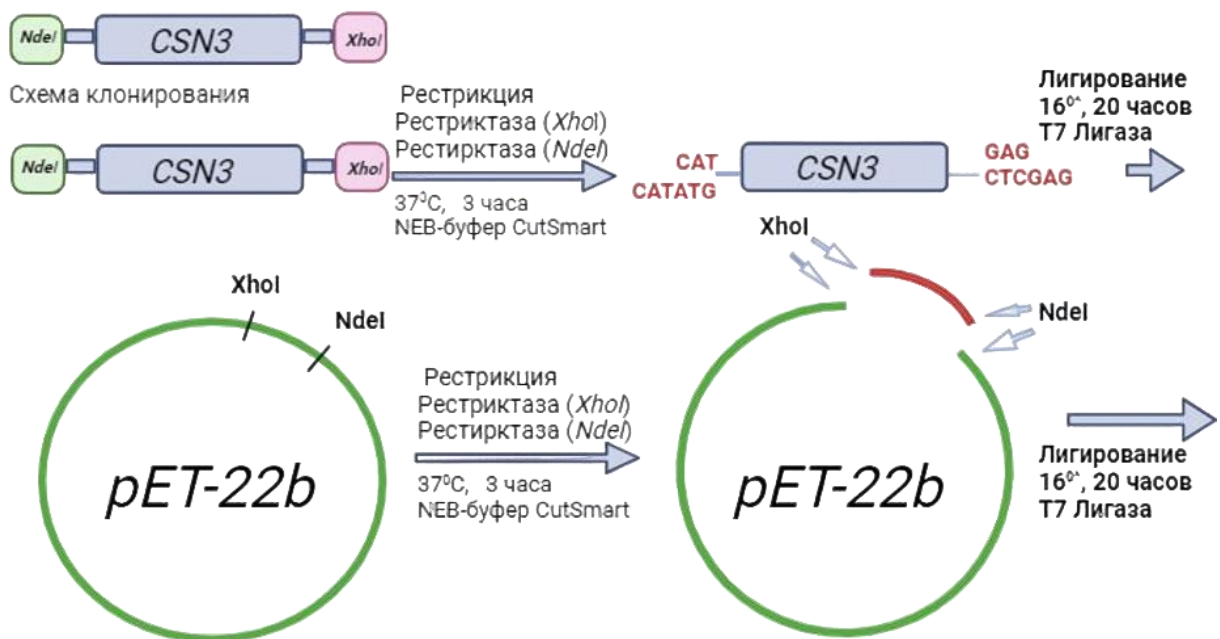


Рисунок 1. Схема конструирования экспрессионного плазмидного вектора pET-22b::CSN3

3.2.3. Последовательность выполнения работы

- **Получение вставки CSN3 с фланкирующими сайтами рестрикции**

- 1) Найти и получить исходную ДНК, содержащую ген CSN3.
- 2) Спроектировать праймеры для ПЦР, добавив к ним сайты рестрикции:
 - * к 5'-концу – последовательность NdeI (CATATG);
 - * к 3'-концу – последовательность XhoI (CTCGAG).
- 3) Провести ПЦР-амплификацию гена CSN3 с использованием данных праймеров.
- 4) Проверить наличие целевого фрагмента электрофорезом в агарозном геле.
- 5) Очистить амплифицированный продукт с помощью набора для очистки ПЦР-продуктов.

Назначение этапа: получить фрагмент CSN3, пригодный для направленного клонирования в вектор pET-22b.

- **Проведение двойной рестрикции вставки и вектора**

- 1) Подготовить реакционные смеси для рестрикции гена CSN3 и вектора pET-22b:
 - * использовать рестриктазы NdeI и XhoI;
 - * добавить NEB буфер CutSmart;
 - * инкубировать при 37 °C в течение 3 часов.
- 2) Провести параллельно рестрикцию:
 - * амплифицированного гена CSN3 – для получения фрагмента с липкими концами;
 - * плазмиды pET-22b – для получения линейного вектора с комплементарными концами.
- 3) После рестрикции провести очистку фрагментов.

Назначение этапа: создать совместимые концы для направленного соединения гена и вектора.

- **Лигирование фрагмента CSN3 с вектором pET-22b**

- 1) Подготовить реакцию лигирования:
 - * использовать ДНК-лигазу (T7 или T4);
 - * задать соотношение вектор : вставка = 1 : 3;
 - * инкубировать при 16 °C в течение 16–20 часов.

2) Получить рекомбинантную ДНК рЕТ-22b::CSN3.

Назначение этапа: соединить целевой ген и вектор с образованием стабильной круговой плазмиды.

- **Трансформация *E. coli***

1) Очистить лигазную смесь от солей.

2) Ввести рекомбинантную плазмиду в компетентные клетки *E. coli* методом электропорации (см. рисунок 2).

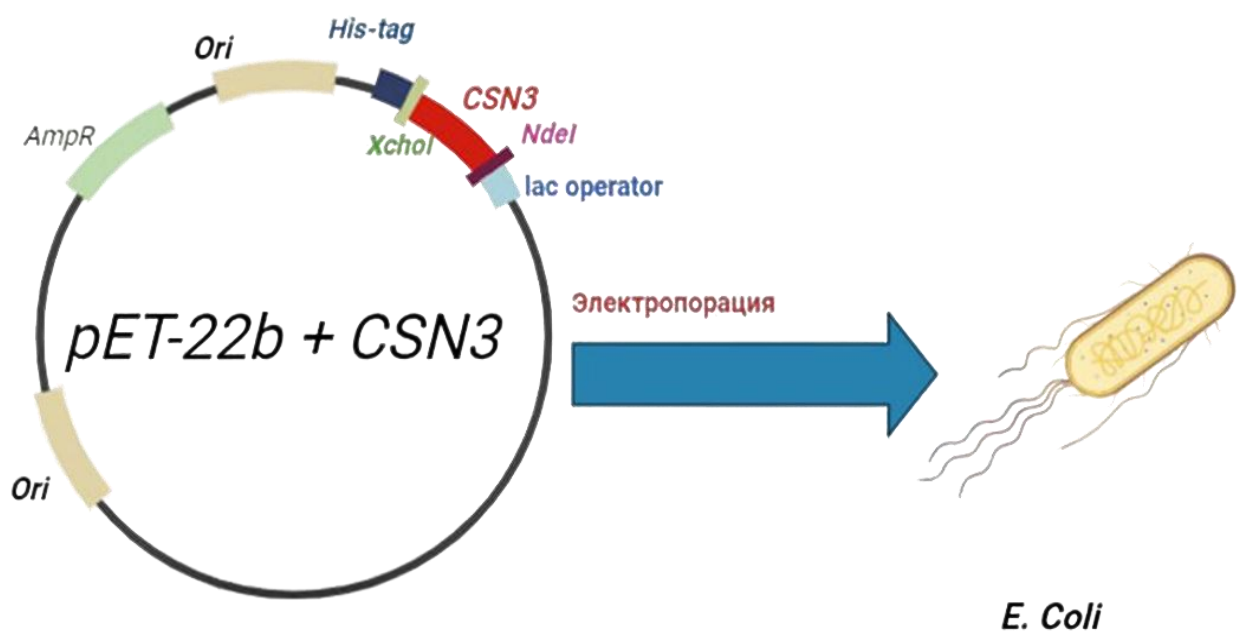


Рисунок 2. Введение плазмиды рЕТ-22b::CSN3 в клетки E. coli методом электропорации

3) После обработки импульсом добавить SOC-среду и инкубировать клетки 1 час при 37 °С.

4) Высеять клетки на питательный агар с ампициллином (100 µg/mL).

5) Инкубировать до появления колоний.

Назначение этапа: получить трансформированные клетки, содержащие рекомбинантную плазмиду.

- **Контрольные этапы и верификация**

После получения колоний необходимо подтвердить наличие и правильность конструкции.

1) Контроль лигирования:

- * Параллельно поставить реакцию без вставки, чтобы исключить самозамыкание вектора.

2) Скрининг колоний:

- * Провести колониальный ПЦР с праймерами, фланкирующими MCS.
- * Выявить клоны, содержащие вставку нужной длины.

3) Диагностическая рестрикция:

- * Извлечь плазмиду из положительных колоний.
- * Провести рестрикцию NdeI/XhoI и проанализировать длину фрагментов на геле.

4) Секвенирование:

- * Выполнить секвенирование праймерами T7prom и T7term.
- * Подтвердить правильность рамки считывания и отсутствие мутаций.

- **Экспрессия и использование полученной конструкции**

1) Использовать штамм *E. coli* BL21(DE3) или аналог, содержащий ген T7-РНК-полимеразы.

2) Трансформировать клетки плазмидой pET-22b::CSN3.

3) При достижении оптической плотности $OD_{600} \approx 0.6$ индуцировать экспрессию добавлением IPTG (0.5 mM).

4) После индукции синтезируется белок CSN3-His, который можно очищать с помощью Ni-NTA-аффинной хроматографии.

Назначение этапа: получить и очистить целевой рекомбинантный белок.

- **Критические моменты и возможные ошибки**

1) Рамка считывания:

Праймеры должны быть спроектированы так, чтобы сайт NdeI (CATATG) содержал старт-кодон, а стоп-кодон отсутствовал до His-тега.

2) Самолигирование вектора:

При необходимости обработать вектор щелочной фосфатазой для предотвращения замыкания без вставки.

3) Совместимость буфера:

Использовать CutSmart – он подходит для одновременной работы NdeI и XhoI.

4) Электропорация:

Избыток солей резко снижает эффективность. Перед пульсом необходимо тщательно очистить ДНК.

4. Выводы

Таким образом, в ходе работы:

1. На основании анализа научных публикаций и данных генетических исследований установлено, что гаплотип В гена CSN3 ассоциирован с повышенной концентрацией белка, улучшенной свёртываемостью молока и повышенным выходом сыра. Это подтверждает связь между генетическим вариантом каппа-казеина и его технологическими свойствами.

2. Проведена практическая работа и её результаты показали, что выход, плотность и консистенция сыра зависят от породы коров и, соответственно, от содержания каппа-казеина в молоке. Наибольший выход и наиболее плотный сырный сгусток получены из молока джерсейской породы, что подтверждает её наилучшую пригодность для сыроделия и экспериментально подтверждает влияние каппа-казеина на эффективность коагуляции молока.

3. Разработана теоретическая схема получения рекомбинантной плазмиды рЕТ-22b::CSN3, включающая этапы амплификации, рестрикции, лигирования и трансформации *E. coli*. Обоснован выбор вектора рЕТ-22b благодаря наличию T7-промотора, С-концевого His-тега и lac-оператора. Доказано, что данная конструкция обеспечивает возможность контролируемой экспрессии белка и последующей аффинной очистки.

4. Проведён сравнительный анализ методов генетического скрининга — ПЦР, SNP-генотипирования и AFLP. На основе анализа их эффективности, стоимости и точности доказано, что наиболее целесообразным для массового тестирования крупного рогатого скота является SNP-генотипирование, обеспечивающее оптимальное соотношение надёжности и скорости определения генотипа по каппа-казеину.

5. Заключение

Одной из важнейших задач зоотехнической науки на современном этапе является повышение молочной продуктивности крупного рогатого скота и улучшение качественных показателей молока. Решение этой задачи связано с эффективным использованием генетических ресурсов животных и применением современных методов популяционной генетики, маркерной селекции и ДНК-технологий.

Для обеспечения продовольственной безопасности страны необходимо дальнейшее развитие отечественной молочной промышленности, ориентированной на получение сырья высокого качества, содержащего оптимальное количество белка и казеина, что особенно важно для производства сычужных сыров. В настоящее время потребность России в качественных сырах частично покрывается за счёт импорта, что делает развитие внутренней сыродельной базы особенно актуальным.

Ведущие научные центры, в том числе Федеральный исследовательский центр животноводства имени академика Л. К. Эрнста, проводят исследования влияния полиморфизма гена каппа-казеина на технологические свойства молока и особенности свертываемости. Эти работы направлены на повышение эффективности селекционно-племенной деятельности и улучшение качества молочных продуктов.

Результаты выполненной работы согласуются с современными научными данными. Проведённый анализ подтвердил гипотезу о том, что разработанная схема экспрессии гена CSN3, кодирующего каппа-казеин, в системе *E. coli* может использоваться как модель для изучения влияния его аллелей на свойства белка и технологические качества молока. По литературным источникам установлено, что вариант В каппа-казеина связан с лучшей свертываемостью и повышенным выходом сыра, что подтверждает актуальность и практическую значимость данного исследования.

Таким образом, поставленные задачи достигнуты: теоретически обоснована схема получения рекомбинантного белка каппа-казеина, определены подходы к верификации плазмидных конструкций и проанализированы современные методы генетического скрининга. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем при разработке отечественных систем генетического тестирования крупного рогатого скота и в работах, направленных на повышение качества молока и сыропригодности.

6. Используемые источники

1. Thermo Fisher Scientific Inc. – 2006–2024 гг. – URL: <https://www.thermofisher.com> (дата обращения: 12.12.2024).
2. BioTek Instruments, Inc. – Улица Тиган 100, Виноски, Вермонт, 05404, Соединённые Штаты. – URL: <https://www.biotek.com> (дата обращения: 04.11.2024).
3. Merck KGaA, Дармштадт, Германия и/или её филиалы. – 2024. – URL: <https://www.sigmaaldrich.com> (дата обращения: 27.01.2025).
4. OptiGene Ltd. – Блок 5, Блэтчфорд-роуд, Хоршем, Западный Суссекс, RH13 5QR, Объединённое Королевство. – URL: <https://www.optigene.co.uk> (дата обращения: 09.03.2025).
5. Illumina, Inc. – 2024. – URL: <https://www.illumina.com> (дата обращения: 22.02.2025).
6. Егорашина Е. В. Молочная продуктивность коров айрширской, голштинской и ярославской пород с разными генотипами по каппа-казеину и бета-лактоглобулину: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Лесные Поляны, Московская область, 2020. – 20 с. (дата обращения: 15.01.2025).
7. Richardson T. Molecular Cloning and Expression of Bovine K-Casein in Escherichia coli // Journal of Dairy Science. – С. 29–40. (дата обращения: 17.05.2025).
8. Deb I., Singh U., Kumar S. Genetic polymorphism and association of kappa-casein gene with milk production traits among Frieswal (HF × Sahiwal) cross breed of Indian origin: автореф. дис. – Uttar Pradesh, India, 2014. – 3 с. (дата обращения: 02.12.2024).
9. Городецкий С. И., Захарьев В. М. кДНК альфа-S1-казеина крупного рогатого скота: клонирование и нуклеотидная последовательность // PubMed. – 1986. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov> (дата обращения: 10.03.2025).
10. Городецкий С. И., Каледин А. С. Нуклеотидная последовательность кДНК каппа-казеина коров // PubMed. – 1987. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov> (дата обращения: 06.02.2025).
11. Ярлыков Н. Г. Влияние генотипа каппа-казеина на молочную продуктивность и сыропригодность молока коров ярославской породы: автореф. дис. канд. с.-х. наук. – Ярославль, 2007. – 26 с. – URL: <https://vak.minobrnauki.gov.ru> (дата обращения: 25.04.2025).