

## ИЗОФЕРМЕНТЫ $\beta$ -ГАЛАКТОЗИДАЗ *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* БИМ В-813Д

**А. Н. Морозова,**  
научный сотрудник лаборатории  
молочнокислых и бифидобактерий  
Института микробиологии  
НАН Беларуси;

**Н. А. Головнева,**  
кандидат биологических наук,  
заведующий лабораторией молочнокислых  
и бифидобактерий Института  
микробиологии НАН Беларуси

## *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* BIM B-813D $\beta$ -GALACTOSIDASE ISOPHERMENTS

**A. Morozova,**  
researcher of the Laboratory  
of Lactic Acid and Bifidobacteria,  
Institute of Microbiology, National  
Academy of Sciences of Belarus;

**N. Golovneva,**  
PhD in Biology, Head of the Laboratory  
of Lactic Acid and Bifidobacteria,  
Institute of Microbiology, National  
Academy of Sciences of Belarus

Поступила в редакцию 20.01.23.

Received on 20.01.23.

Определены изоферменты  $\beta$ -галактозидаз *B. longum* БИМ В-813Д, синтезируемые при культивировании бактерий в средах с разными источниками углеродного питания. Показано, что глюкоза не вызывает репрессию синтеза  $\beta$ -галактозидазы. Электрофоретический анализ белков, изолированных из клеток, выращенных на средах с глюкозой и лактозой, показал наличие трех конститутивно синтезируемых изоферментов  $\beta$ -галактозидазы. Выявленные изоферменты  $\beta$ -галактозидазы  $\beta$ -гал1,  $\beta$ -гал2 и  $\beta$ -гал3, вероятно, соответствуют белкам BgaB2, BgaB3 и LacZ1 – продуктам генов bgaB2, bgaB3 и lacZ1 *B. longum* БИМ В-813Д. Установлено трансгликозилирующее действие трех изоферментов  $\beta$ -галактозидаз бифидобактерий *B. longum* БИМ В-813Д.

**Ключевые слова:** бифидобактерии, *Bifidobacterium longum*,  $\beta$ -галактозидаза, изоферменты, гидролиз лактозы, трансгликозилирование.

The article determines  $\beta$ -galactosidase isoenzymes of *B. longum* BIM B-813D synthesized when the bacteria were cultured in media with different sources of carbon nutrition. It was shown that glucose does not cause repression of  $\beta$ -galactosidase synthesis. Electrophoretic analysis of proteins isolated from cells grown on media with glucose and lactose showed the presence of three constitutively synthesized  $\beta$ -galactosidase isoenzymes. The identified  $\beta$ -galactosidase isoenzymes  $\beta$ -gal1,  $\beta$ -gal2, and  $\beta$ -gal3 probably correspond to BgaB2, BgaB3, and LacZ1 proteins, products of the bgaB2, bgaB3, and lacZ1 genes of *B. longum* BIM B-813D. The transglycosylation effect of three  $\beta$ -galactosidase isoenzymes of *Bifidobacterium longum* BIM B-813D was established.

**Keywords:** bifidobacteria, *Bifidobacterium longum*,  $\beta$ -galactosidase, isoenzymes, lactose hydrolysis, transglycosylation.

**Введение.**  $\beta$ -галактозидаза ( $\beta$ -D-галактозид-гидролаза, ЕС 3.2.1.23, лактаза) – фермент класса гидролаз, расщепляет лактозу на глюкозу и галактозу [1, с. 775], широко применяется в пищевой, молочной, фармацевтической промышленности. При недостатке этого фермента в организме человека развивается синдром нарушенного пищеварения и всасывания – лактазная недостаточность. Бифидобактерии, являясь важной составляющей частью микробиоты человека, широко используются в пробиотических композициях для коррекции микробиоценоза кишечника, в качестве заквасок при создании продуктов функционального питания [2–3].

Перспективным направлением является использование бифидобактерий для коррекции лактазной недостаточности в организме человека [4, с. 10], вызванной врожденной непереносимостью лактозы из-за недостатка  $\beta$ -галактозидазы или приобретенной в результате длительного приема антибиотиков. В настоящее время для устранения симптомов непереносимости молочного сахара лактозы у людей применяют препараты  $\beta$ -галактозидаз, продуцируемых дрожжевыми или мицелиальными грибами. Известно, что бифидо-

бактерии также обладают  $\beta$ -галактозидазной активностью. Кроме гидролитических свойств для  $\beta$ -галактозидаз бифидобактерий характерны реакции трансгликозилирования, продуктами которых являются пребиотические галактоолигосахариды [5, с. 11]. Продукция пребиотиков бифидобактериями важна для поддержания микробиологического баланса кишечника.

Синтез  $\beta$ -галактозидаз у бифидобактерий является преимущественно индуцированным, экспрессия генов зависит от источника углеродного питания в среде культивирования [6, с. 289]. При этом состав изоферментов  $\beta$ -галактозидаз у разных штаммов бифидобактерий индивидуален, как и особенности регуляции их синтеза, что отражает приспособленность к экологической нише, которую занимают эти микроорганизмы [7, с. 4]. Изучение свойств, особенностей продукции и экспрессии генов  $\beta$ -галактозидаз у бифидобактерий в зависимости от источника углеродного питания в среде культивирования представляет не только научный, но и практический интерес [8, с. 13]. Ранее нами было показано, что бифидобактерии *B. longum* БИМ В-813Д проявляют  $\beta$ -галактозидазную активность

при выращивании на средах с разными источниками углеродного питания, в том числе с глюкозой. Было высказано предположение, что синтез β-галактозидазы у *B. longum* БИМ В-813Д не подвержен катаболитной репрессии [9, с. 145].

Цель исследования – выявить изоферменты β-галактозидаз, синтезируемые *B. longum* БИМ В-813Д в зависимости от источника углеродного питания в среде культивирования.

**Объекты и методы исследования.** Объектом исследований был выбран штамм *B. longum* БИМ В-813Д, полученный в результате селекции по уровню β-галактозидазной активности, превосходящий исходный *B. longum* Cf в 6,5-8 раз по продукции фермента.

Культуру *B. longum* БИМ В-813Д выращивали в течение 18 ч при 37 °С в модифицированной среде MRS с лактозой (1 %) либо глюкозой (1 %) в качестве источника углерода [10, с. 134].

Для выделения внутриклеточных белков клетки бактерий отделяли центрифугированием при 10 000 оборотов в минуту 10 мин и температуре 4 °С, осадок дважды отмывали 0,1М Na-фосфатным буфером (рН 7,0). Отмытые клетки бифидобактерий, ресуспендированные в 0,05М Na-фосфатном буфере, разрушали с помощью прессы Френча (French press GEA Niro Soavi). Полученный гомогенат центрифугировали, белки из надосадка фракционировали ультрафильтрацией в концентраторах (Millipore) по молекулярной массе (до 30 кДа, более 30 кДа). В полученных фракциях определяли активность β-галактозидазы.

Количество белка определяли методом Bradford и выражали в мг/мл биомассы [11].

Гидролитическую активность β-галактозидазы оценивали спектрофотометрически по количеству образовавшегося о-нитрофенола из о-нитрофенил-β-D-галактопиранозида (о-НФГ) при 37 °С в течение 1–5 минут гидролиза. Реакционная смесь включала 0,2 М Na-фосфатный буфер рН 7,0; о-НФГ в концентрации 3 мкг/мл (Sigma-Aldrich) и исследуемый образец. Реакцию останавливали добавлением 1М Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. За единицу активности β-галактозидазы принимали количество фермента, которое гидролизует 1 ммоль о-НФГ за 1 мин при 37 °С и рН 7,0.

Удельную активность (Е) β-галактозидазы рассчитывали по формуле:

$$E = KФ / KB,$$

где E – удельная активность фермента;

KФ – активность фермента в ед/мл;

KB – концентрация белка в мг/мл.

Трансгликозилирующее действие β-галактозидаз определяли методом тонкослойной хроматогра-

фии (ТСХ), на пластинках силикагеля марки Silufol. Реакцию проводили в течение 18 ч, используя в качестве субстрата 15 % лактозу в 0,05 М Na-фосфатном буфере, рН 7,0; останавливали кипячением на водяной бане в течение 10 мин. Разделительная смесь содержала бутанол : этанол : воду в соотношении 5 : 3 : 2 соответственно. Хроматографическое разделение выполняли в камере 21,5 × 17 × 7 см, насыщенной парами элюирующей системы. Длина пробега элюента составила 9 см. Для проявления хроматограмм использовали 1 % раствор нафторезорцина в этаноле с добавлением фосфорной кислоты в соотношении 1 : 10. Краситель является высокочувствительным реагентом для определения локализации олигосахаридов (пентозы окрашиваются в оттенки красного цвета, гексозы – в оттенки синего). Для окрашивания продуктов реакции трансгликозилирования пластинку прогревали при температуре 100 °С в течение 5 мин. Расчет коэффициента подвижности проводили по формуле:

$$Rf = x_b / x_{\phi},$$

где Rf – коэффициент подвижности;

x<sub>b</sub> – расстояние от стартовой линии до центра пятна исследуемого вещества;

x<sub>φ</sub> – расстояние от линии старта до фронта элюента [12, с. 459].

В качестве стандартов на пластинку наносили 2 мкл растворов галактозы, глюкозы, лактозы, рафинозы, стахиозы и тетраозы в концентрации 5 %.

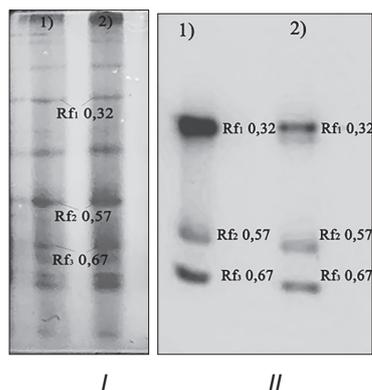
Электрофорез в нативных условиях проводили в 7 %-ном полиакриламидном геле, используя трис-HCl буфер (рН 6,8) для концентрирующего геля и трис-HCl буфер (рН 8,8) для разделяющего геля. Электродным рабочим буфером служил трис-глициновый буфер рН 8,3. Для определения белков гели прокрашивали раствором Кумасси G-250 в 3,5 % хлорной кислоте [13]. Электрофоретическое разделение белков в денатурирующих условиях проводили в 10 % полиакриламидном геле с ионным детергентом додецилсульфатом натрия в системе Laemmli.

Молекулярную массу белков определяли по калибровочному графику, построенному на основании линейной зависимости логарифма молекулярной массы (lg Mm) от относительной электрофоретической подвижности белков с известной молекулярной массой (10–250 кДа). В качестве маркера молекулярной массы белков использовали стандарт 10–250 кДа Color Prestained Protein Standard, Broad Range (New England Biolabs, США).

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенного ранее молекулярно-генетического анализа генома *B. longum* БИМ В-813Д выявлены детерминанты, кодирующие продукцию β-галакто-

**Таблица 1 – Удельная активность β-галактозидазы *B. longum* БИМ В-813Д**

| Источник углерода в среде роста | Фракция белков | Активность β-галактозидазы, ед/мл | Белок, мг/мл | Удельная активность β-галактозидазы, E ед/мг белка |
|---------------------------------|----------------|-----------------------------------|--------------|--|
| лактоза                         | Гомогенат      | 115,9                             | 2,09         | 55,5   |
|                                 | > 30кДа        | 96,6                              | 3,32         | 29,1   |
|                                 | < 30кДа        | 0                                 | –            | 0  |
| глюкоза                         | Гомогенат      | 87                                | 2,06         | 42,2   |
|                                 | > 30кДа        | 68,6                              | 4,03         | 17   |
|                                 | < 30кДа        | 0                                 | –            | 0  |



фракция белков с молекулярной массой более 30кДа из клеток *B. longum* БИМ В-813Д, выращенных на среде с лактозой (ряд 1), глюкозой (ряд 2)

Рисунок 1 – Электрофореграмма (I) и энзимогрaмма (II) белков *B. longum* БИМ В-813Д с  $\beta$ -галактозидазной активностью при электрофорезе в ПААГ в нативных условиях

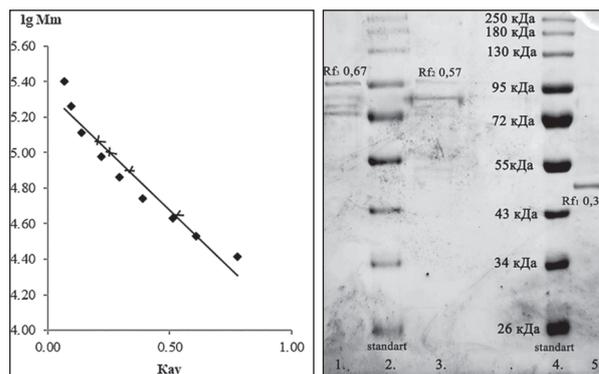
зидаз у *B. longum* БИМ В-813Д: *Bgal\_small\_N*, *lacZ1*, *bgaB1*, *bgaB2* и *bgaB3*, и *lacZ2* [14, с 282]. В предыдущих исследованиях также показано, что  $\beta$ -галактозидаза является внутриклеточным белком, внесение глюкозы в период экспоненциального или стационарного роста культуры *B. longum* БИМ В-813Д не вызывает репрессию синтеза фермента [10, с. 145]. Представляло интерес в сравнительном аспекте определить спектр белков с  $\beta$ -галактозидазной активностью при выращивании *B. longum* БИМ В-813Д на среде с лактозой и глюкозой в качестве источников углерода.

Для выявления белков с  $\beta$ -галактозидазной активностью из надосадочной жидкости гомогенатов клеток *B. longum* БИМ В-813Д, выращенных на средах с лактозой или глюкозой, с использованием ультрафильтрации получены фракции внутриклеточных белков.  $\beta$ -галактозидазная активность обнаружена в обоих вариантах в образцах белков с молекулярной массой более 30 кДа (таблица 1).

Таким образом, показано, что независимо от источника углеродного питания в клетках бифидобактерий синтезируются белки с  $\beta$ -галактозидазной активностью, при этом общая и удельная активность фермента, полученного на среде с лактозой, выше по сравнению с активностью фермента, синтезируемого на среде с глюкозой, на 25 и 40 %, соответственно.

Выделенные из клеток белки фракционировали электрофоретически в нативных условиях, затем визуализировали  $\beta$ -галактозидазы с использованием о-НФГ в качестве субстрата. Сравнение энзимогрaмм показало наличие трех окрашенных зон с  $\beta$ -галактозидазной активностью вне зависимости от источника углеродного питания:  $\beta$ -гал1 с  $Rf_1$  0,32;  $\beta$ -гал2 с  $Rf_2$  0,57 и  $\beta$ -гал3 с  $Rf_3$  0,67 (рисунок 1). Результаты исследования дополняют ранее полученные экспериментальные данные о том, что глюкоза не вызывает репрессию синтеза  $\beta$ -галактозидазы [9, с. 147] и позволяют предположить экспрессию трех изоферментов  $\beta$ -галактозидазы при культивировании *B. longum* БИМ В-813Д на средах с глюкозой и лактозой.

Следует отметить, что при электрофоретическом исследовании белков исходного штамма *B. lon-*



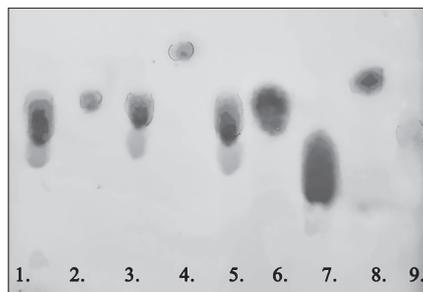
1 –  $\beta$ -гал3; 2 – стандарты белков с известной молекулярной массой; 3 –  $\beta$ -гал2; 4 – стандарты белков с известной молекулярной массой; 5 –  $\beta$ -гал1

Рисунок 2 – Электрофоретический анализ в денатурирующих условиях белков с  $\beta$ -галактозидазной активностью *B. longum* БИМ В-813Д

*gum* Cf в аналогичных условиях  $\beta$ -галактозидазы обнаружены только при культивировании бактерий на лактозе [15, с. 197].

Для дальнейшей характеристики ферментов провели элюцию белков из зон, окрашенных по  $\beta$ -галактозидазной активности, и электрофоретическое разделение в денатурирующих условиях. По построенному на основании относительной подвижности маркерных белков калибровочному графику определена молекулярная масса элюированных белков. В зоне геля с  $Rf_1$  0,32 доминировал белок с молекулярной массой около 50 кДа. В областях геля с  $Rf_2$  0,57 и  $Rf_3$  0,67 обнаружены белки, рассчитанная молекулярная масса которых составила 117 кДа, 81 кДа, 79 кДа и 72 кДа (рисунок 2).

Исходя из сведений, полученных в результате анализа генома *B. longum* БИМ В-813 Д, можно предположить, что при электрофоретическом разделении выделенных из бактерий белков обнаруживаются продукты генов *bgaB2*, *bgaB3* и *lacZ1*. По данному генетическому анализу,  $\beta$ -галактозидаза *lacZ1* относится к семейству GH2 гликозил-гидролаз, имеет молекулярную массу 114,5 кДа.  $\beta$ -галактозидазы *BgaB2* и *BgaB3*, представители семейства GH42 гликозил-гидролаз, являются белками с молекулярной массой 77,4 кДа и 79,8 кДа соответственно [14, с. 279].



1 –  $\beta$ -гал1; 2 – лактоза; 3 –  $\beta$ -гал2; 4 – глюкоза; 5 –  $\beta$ -гал3; 6 – рафиноза; 7 – стахиоза; 8 – галактоза; 9 – тетраоза

Рисунок 3 – Хроматографическое разделение продуктов трансгликозилирования лактозы изоферментами  $\beta$ -гал1,  $\beta$ -гал2,  $\beta$ -гал3  $\beta$ -галактозидаз *B. longum* БИМ В-813Д

$\beta$ -галактозидазы бифидобактерий в определенных условиях катализируют трансферазную реакцию (впервые обнаружена Wallenfels в 1951 г.) [16, с. 306], продуктами которой являются  $\beta$ -галактоолигосахариды (ГОС). Для определения трансгликозилирующего действия изоферментов  $\beta$ -галактозидаз, элюированных из геля после электрофоретического разделения, проведен хроматографический анализ продуктов реакции с лактозой. Обнаружены продукты трансгликозилирования лактозы изоферментами  $\beta$ -галактозидаз  $\beta$ -гал1,  $\beta$ -гал2,  $\beta$ -гал3 с Rf в области 0,333–0,478, соответствующие по хроматографической подвижности ди-, три- и тетрасахаридам (рисунок 3).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Uchil, P. D.  $\beta$ -Galactosidase / P. D. Uchil, A. Nagarajan, P. Kumar // Cold Spring Harb Protoc. – 2017. – Vol. 2017, № 10. – P. 774–779.
2. O'Callaghan A, van Sinderen D. Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota / A. O'Callaghan, D. van Sinderen // Front. Microbiol. – 2016. – Vol. 7. – P. 1–23.
3. Development of Functional Foods / V. Débora [et al.] // Innovation Strategies in the Food Industry – 2016. – P. 191–211.
4. Vandenplas, Y. Lactose intolerance / Y. Vandenplas // MD Asia Pac. J. Clin. Nutr. – 2015. – P. 9–13.
5. Пребиотики как функциональные пищевые ингредиенты: терминология, критерии выбора и сравнительной оценки, классификация / А. Г. Храмов [и др.] // Вопр. питания. – 2018. – Т. 87, № 1. – С. 5–17.
6. Pokusaeva, K. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria / K. Pokusaeva, G. F. Fitzgerald, D. van Sinderen // Genes Nutr. – 2011. – Vol. 6, N 3. – P. 285–306.
7. Bondue, P. Genome of Bifidobacteria and Carbohydrate Metabolism / P. Bondue, V. Delcenserie // Korean J Food Sci. Anim. Resour. – 2015. – Vol. 35, № 1. – P. 1–9.
8. Cloning, Expression, Purification, and Characterization of  $\beta$ -Galactosidase from *Bifidobacterium longum* and *Bifidobacterium pseudocatenulatum* / M. Du [et al.] // Molecules – 2022. – Vol. 27. – P. 1–15.
9. Морозова, А. Н. Биосинтез  $\beta$ -галактозидаз бифидобактериями в зависимости от источника углерода в среде / А. Н. Морозова, Н. А. Головнева // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. науч. тр. / НАН Беларуси. Ин-т микробиологии ; редкол. : Э. И. Коломиец [и др.]. – Минск, 2022. – Т. 14. – С. 136–149.
10. De Man, J. C. A medium for the cultivation of lactobacilli / J. C. De Man, M. Rogosa, M. E. Sharpe, // J. Appl. Bacteriol. – 1960. – Vol. 23, № 1. – P. 130–135.
11. Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochem. – 1976. – Vol. 72, № 1. – P. 248–254.
12. Остерман, Л. А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот / Л. А. Остерман; Отв. ред. Г. П. Георгиев. – М. : Наука, 1985. – 536 с.
13. Davis, B. J. Disc electrophoresis. II Method and application to human serum proteins // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1964. – Vol. 121. – P. 404–427.
14. Морозова, А. Н. Молекулярно-генетический анализ детерминант, кодирующих  $\beta$ -галактозидазы бактерий *Bifidobacterium longum* БИМ В-813 Д / А. Н. Морозова, А. Э. Охремчук, Н. А. Головнева // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2022. – № 3. – С. 274–284.
15. Морозова, А. Н. Выделение и очистка  $\beta$ -галактозидазы *V. adulescentis* CF / А. Н. Морозова, Н. А. Головнева // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии : материалы VII Междунар. науч. конф., Минск, 31 мая – 4 июня 2010 г. / Ин-т микробиологии НАН Беларуси; ред.: Э. И. Коломиец. – Минск, 2010. – С. 196–198.
16. Wallenfels, K. Enzymatische synthese oligosacchariden auf disacchariden / K. Wallenfels // Naturwissenschaften. – 1951. – Vol. 38. – P. 306–307.

**Заклучение.** Проведенное исследование подтверждает полученные ранее данные о том, что глюкоза не оказывает репрессивное действие на синтез  $\beta$ -галактозидаз у бифидобактерий *B. longum* БИМ В-813Д. Показано, что независимо от источника углерода в питательной среде в клетках *B. longum* БИМ В-813 Д синтезируются, как минимум, три изофермента с  $\beta$ -галактозидазной активностью. Выявленные изоформы  $\beta$ -галактозидаз  $\beta$ -гал1,  $\beta$ -гал2 и  $\beta$ -гал3, вероятно, соответствуют белкам BgaB2, BgaB3 и LacZ1 – продуктам генов *bgaB2*, *bgaB3* и *lacZ1*. Установлено трансгликозилирующее действие выявленных изоферментов  $\beta$ -галактозидаз *B. longum* БИМ В-813 Д.

#### REFERENCES

1. Uchil, P. D.  $\beta$ -Galactosidase / P. D. Uchil, A. Nagarajan, P. Kumar // Cold Spring Harb Protoc. – 2017. – Vol. 2017, № 10. – P. 774–779.
2. O'Callaghan A, van Sinderen D. Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota / A. O'Callaghan, D. van Sinderen // Front. Microbiol. – 2016. – Vol. 7. – P. 1–23.
3. Development of Functional Foods / V. Débora [et al.] // Innovation Strategies in the Food Industry – 2016. – P. 191–211.
4. Vandenplas, Y. Lactose intolerance / Y. Vandenplas // MD Asia Pac. J. Clin. Nutr. – 2015. – P. 9–13.
5. Prebiotiki kak funkcional'nye pishchevye ingredienty: terminologiya, kriterii vybora i sravnitel'noj ocenki, klassifikaciya / A. G. Hramcov [i dr.] // Voпр. pitaniya. – 2018. – Т. 87, № 1. – С. 5–17.
6. Pokusaeva, K. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria / K. Pokusaeva, G. F. Fitzgerald, D. van Sinderen // Genes Nutr. – 2011. – Vol. 6, N 3. – P. 285–306.
7. Bondue, P. Genome of Bifidobacteria and Carbohydrate Metabolism / P. Bondue, V. Delcenserie // Korean J Food Sci. Anim. Resour. – 2015. – Vol. 35, № 1. – P. 1–9.
8. Cloning, Expression, Purification, and Characterization of  $\beta$ -Galactosidase from *Bifidobacterium longum* and *Bifidobacterium pseudocatenulatum* / M. Du [et al.] // Molecules – 2022. – Vol. 27. – P. 1–15.
9. Morozova, A. N. Biosintez  $\beta$ -galaktozidaz bifidobakteriyami v zavisimosti ot istochnika ugleroda v srede / A. N. Morozova, N. A. Golovneva // Mikrobnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty : sb. nauch. tr. / NAN Belarusi, In-t mikrobiologii ; redkol. : E. I. Kolomiec [i dr.]. – Minsk, 2022. – Т. 14. – С. 136–149.
10. De Man, J. C. A medium for the cultivation of lactobacilli / J. C. De Man, M. Rogosa, M. E. Sharpe, // J. Appl. Bacteriol. – 1960. – Vol. 23, № 1. – P. 130–135.
11. Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochem. – 1976. – Vol. 72, № 1. – P. 248–254.
12. Osterman, L. A. Hromatografiya belkov i nukleinovykh kislot / L. A. Osterman; Otv. red. G. P. Georgiev. – M. : Nauka, 1985. – 536 s.
13. Davis, B. J. Disc electrophoresis. II Method and application to human serum proteins // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1964. – Vol. 121. – P. 404–427.
14. Morozova, A. N. Molekulyarno-geneticheskij analiz determinant, kodiruyushchih  $\beta$ -galaktozidazy bakterij *Bifidobacterium longum* BIM В-813 D / A. N. Morozova, A. E. Ohremchuk, N. A. Golovneva // Ves. Nac. akad. navuk Belarusi. Ser. biyal. navuk. – 2022. – № 3. – С. 274–284.
15. Morozova, A. N. Vydelenie i ochildka  $\beta$ -galaktozidazy *V. adulescentis* SF / A. N. Morozova, N. A. Golovneva // Sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya mikrobiologii i biotekhnologii : materialy VII Mezhdunar. nauch. konf., Minsk, 31 maya – 4 iyunya 2010 g. / In-t mikrobiologii NAN Belarusi; red.: E. I. Kolomiec. – Minsk, 2010. – С. 196–198.
16. Wallenfels, K. Enzymatische synthese oligosacchariden auf disacchariden / K. Wallenfels // Naturwissenschaften. – 1951. – Vol. 38. – P. 306–307.