

Polymorphisme des caséines α_{s1} et α_{s2} de la chèvre (*Capra hircus*)

Anne BOULANGER ⁽¹⁾, F. GROSCLAUDE ⁽²⁾ et Marie-Françoise MAHÉ

I.N.R.A., Laboratoire de Génétique biochimique
Centre de Recherches zootechniques, F 78350 Jouy-en-Josas

Résumé

Une analyse biochimique et génétique du complexe des « caséines α_s » de la chèvre a été effectuée à l'aide d'échantillons de lait individuels provenant d'animaux des races *Alpine chamoisée* et *Saanen*, et de sujets croisés, dérivés pour la plupart de ces deux races, élevés dans trois grands troupeaux (Brouessy, Bourges et Moissac).

Contrairement à ce qui paraissait acquis depuis le travail de RICHARDSON & CREAMER (1975), le lait de chèvre contient de la caséine α_{s1} ; on y retrouve donc les quatre mêmes espèces de caséine que dans le lait de vache (α_{s1} , α_{s2} , β et κ). Les caséines α_{s1} et α_{s2} , dont les fractions sont en partie superposées après électrophorèse en gel d'amidon à pH 8,6, sont par contre bien séparées après électrophorèse en gel d'amidon à pH 3.

L'électrophorèse en gel acide permet de mettre en évidence des différences nettes et répétables dans la teneur des laits individuels en caséine α_{s1} , celle-ci paraissant même manquer dans certains échantillons, dits de « type nul ». Des essais de dosage par la technique enzymatique de RIBADEAU-DUMAS (1968) indiquent toutefois que la caséine α_{s1} existe dans ces échantillons où elle représente de l'ordre de 8 p. 100 de la caséine totale (Mole/Mole) contre 25 p. 100 environ dans les échantillons à teneur « élevée ». La proportion des chèvres produisant un lait à faible teneur en caséine α_{s1} , types nuls compris, est de 27, 33 et 47 p. 100 respectivement, dans les trois troupeaux étudiés.

Un polymorphisme dont l'étude est compliquée par l'existence des variations quantitatives est par ailleurs décelable aux deux conditions de pH. Le locus α_{s1} -Cn contrôlerait le variant α_{s1} -CnA, deux formes au moins du variant α_{s1} -CnB différant par leur taux de synthèse, et le variant α_{s1} -CnC. Les fréquences du variant α_{s1} -CnA (0,08 à 0,10) et de l'ensemble de type α_{s1} -CnB (0,89-0,90) sont très voisines dans les trois troupeaux; le variant α_{s1} -CnC, plus rare, n'a été trouvé que chez des animaux de race *Saanen* (0,03 dans le troupeau de race pure de Brouessy).

Un polymorphisme de la caséine α_{s2} est décelable dans les deux conditions de pH. Il est contrôlé par deux allèles du locus α_{s2} -Cn, α_{s2} -Cn^A et α_{s2} -Cn^B, dont les fréquences sont très voisines dans les trois troupeaux (0,85 à 0,87 pour α_{s2} -Cn^A).

Des données limitées suggèrent que les loci α_{s1} -Cn et α_{s2} -Cn sont liés chez la chèvre, comme chez la vache.

Mots clés : Chèvre, caséines α_{s1} , caséine α_{s2} , polymorphisme, type nul, liaison génétique.

(1) Ce travail reprend et développe les résultats d'une thèse de 3^e cycle soutenue à l'Université de Paris VII.

(2) A qui toute correspondance doit être envoyée.

Summary

Polymorphism of α_{s1} and α_{s2} caseins of the goat

A biochemical and genetical analysis of the caprine « α_s casein » complex was carried out using individual milk samples from goats of the *Alpine* and *Saanen* breeds, and from cross bred animals, derived mainly from these breeds, kept in three large flocks (Brouessy, Bourges and Moissac).

Contrary to the findings of RICHARDSON & CREAMER (1975) goat's milk was found to contain α_{s1} casein, and thus the same four casein species as cow's milk (α_{s1} , α_{s2} , β and κ). Caseins α_{s1} and α_{s2} whose fractions are partly superimposed after starch gel electrophoresis at pH 8.6 are, on the other hand, well separated after starch gel electrophoresis at pH 3.

Acid gel electrophoresis shows clear and repeatable differences between the individual sample content of α_{s1} casein and this casein is apparently absent in some samples, designated as « null types ». However, dosage assays by the enzymatic technique of RIBADEAU-DUMAS (1968) indicate that α_{s1} casein does exist in null type samples, but its proportion is about 8 p. 100 of whole casein, as compared to about 25 p. 100 in « high » content milks. The proportion of goats producing milk with a low α_{s1} casein content, including null types, is of 27, 33 and 47 p. 100 respectively in the three flocks studied.

In addition, a polymorphism complicated by the incidence of the quantitative variations is detectable in both pH conditions. Locus α_{s1} -Cn appears to control variant α_{s1} -CnA, at least two forms of variant α_{s1} -CnB which differ in their synthesis rate, and variant α_{s1} -CnC. The frequencies of variant α_{s1} -CnA (0.08-0.10) and of the group of type α_{s1} -CnB (0.89-0.90) are very similar in the three flocks; the variant α_{s1} -CnC is less frequent and has only been found in the milk of *Saanen* goats (0.03 in the pure bred flock of Brouessy).

A polymorphism of α_{s2} casein is detectable in both pH conditions. It is controlled by two alleles of the α_{s2} -Cn locus, α_{s2} -Cn^A and α_{s2} -Cn^B, whose frequencies are almost identical in the three flocks (0.85-0.87 for α_{s2} -Cn^A).

Limited data suggest that loci α_{s1} -Cn and α_{s2} -Cn are linked in the goat, as in cattle.

Key words : Goat, α_{s1} -casein, α_{s2} -casein, polymorphism, null type, genetic linkage.

I. Introduction

C'est dans l'espèce bovine qu'ont été effectués les travaux les plus complets sur la biochimie et la génétique des caséines. Les résultats acquis dans cette espèce servent ainsi de référence aux recherches entreprises dans les autres espèces.

Il est désormais bien établi qu'il existe, chez les bovins, quatre espèces de caséines différentes, les caséines α_{s1} , α_{s2} , β et κ . Leur structure primaire a été élucidée (MERCIER *et al.*, 1971; BRIGNON *et al.*, 1977; RIBADEAU-DUMAS *et al.*, 1972; MERCIER *et al.*, 1973). Leurs proportions relatives sont de l'ordre de 38, 11, 38 et 13 p. 100 (DAVIES & LAW, 1977). Ces quatre caséines sont des phosphoprotéines, une partie des chaînes polypeptidiques de la caséine κ étant par ailleurs glycosylée. Les groupements phosphate estérifient des résidus séryle, ou plus rarement thréonyle, figurant dans des séquences tripeptidiques particulières, du type Ser ou Thr - X - Glu ou Asp (X étant un acide aminé quelconque); ces séquences serviraient de code de phosphorylation spécifique de la, ou des phosphorylkinase(s) de la mamelle (MERCIER, 1981).

L'électrophorèse en gel d'échantillons de caséine « entière » provenant de laits de vache individuels révèle une hétérogénéité au niveau de chacune des quatre espèces de caséines. Cette hétérogénéité est la résultante d'une hétérogénéité intrinsèque des caséines α_{s1} , α_{s2} et κ et de variations liées à l'existence d'un polymorphisme génétique aux loci α_{s1} -Cn, α_{s2} -Cn, β -Cn et κ -Cn.

L'hétérogénéité intrinsèque des caséines α_{s1} et α_{s2} résulte de la présence, dans ces protéines, de sites incomplètement phosphorylés (MANSON *et al.*, 1977 ; BRIGNON *et al.*, 1977). Celle de la caséine κ est due à l'existence de sites incomplètement glycosylés (PUJOLLE *et al.*, 1966 ; SCHMIDT *et al.*, 1966) et, secondairement, d'un site incomplètement phosphorylé (VREEMAN *et al.*, 1977). Les diverses fractions observables en électrophorèse diffèrent donc, dans le cas des caséines α_{s1} et α_{s2} , par leur teneur en groupements phosphate, et dans celui de la caséine κ , par leur teneur en groupements glucidiques et en groupements phosphate.

Le polymorphisme génétique des caséines α_{s1} , α_{s2} , β et κ a été analysé dans le genre *Bos*, non seulement chez les bovins (*Bos taurus*), mais aussi chez les zébus (*Bos indicus*) et les yaks (*Bos grunniens*). Les altérations spécifiques de la presque totalité des variants connus ont été identifiées par analyse biochimique (cf. revue de GROSCLAUDE, 1979 ; MAHÉ & GROSCLAUDE, 1982). Les recherches sur le polymorphisme génétique des caséines ont également permis de découvrir une liaison très étroite entre les quatre loci de structure de ces protéines. Cette liaison a été démontrée par des analyses de ségrégation classiques, dont on trouvera un bilan récapitulatif dans GROSCLAUDE (1979). Elle se traduit, au niveau des populations, par l'existence d'un déséquilibre de liaison entre les allèles des quatre loci, ceux des loci α_{s1} -Cn et β -Cn surtout (GROSCLAUDE, 1974, 1979).

Les connaissances actuelles sur les caséines de la chèvre restent fragmentaires.

Dans l'électrophorégramme obtenu à pH alcalin, les deux bandes les plus lentes, assez intenses, sont localisées au niveau de la caséine β bovine. Les fractions correspondantes, étudiées par RICHARDSON & CREAMER (1974), ont une masse moléculaire de 24500 environ, et une composition en acides aminés identique, proche de celle de la caséine β bovine ; elles ne diffèrent que par un groupement phosphate. Ces deux fractions, appelées β_1 et β_2 , représentent donc la caséine β caprine. Dans la discussion de leurs résultats, RICHARDSON & CREAMER (1974) supposent qu'il a pu y avoir, chez la chèvre, duplication du locus de la caséine β et mutation de l'un des loci ainsi dupliqués, mais on peut aussi suggérer, plus simplement, que l'hétérogénéité de la caséine β résulte de la saturation incomplète d'un site de phosphorylation. La structure primaire de la caséine β caprine n'est pas encore connue.

La caséine κ , identifiée dès 1966 par ZITTLE et CUSTER sur la base de ses propriétés physicochimiques (solubilité en présence des ions Ca^{++} , sensibilité à la chymosine), est la mieux connue des caséines de la chèvre. Comme son homologue bovine, elle est composée de plusieurs fractions (5 ont été identifiées), comportant une même chaîne polypeptidique, mais différant par leur teneur en carbohydrates, la fraction principale, la plus lente en électrophorèse à pH alcalin, en étant dépourvue ; cette fraction migre juste en avant de la fraction rapide de caséine β (ADDEO *et al.*, 1978). La composition en acides aminés et phosphore, ainsi que la masse moléculaire de la caséine κ ont été déterminées, à l'origine, par RICHARDSON *et al.* (1973 a). La structure primaire de la chaîne polypeptidique a été élucidée par MERCIER *et al.*

(1976 a et b) ⁽¹⁾. Elle comporte 171 résidus d'acides aminés contre 169 pour la caséine bovine, par suite de l'adjonction, dans le caséinomacropéptide, d'un dipeptide Val-His. Le caséinomacropéptide diffère par ailleurs de son homologue bovin par 16 substitutions d'acides aminés, la paracaséine κ par 8 substitutions.

Les fractions les plus rapides de l'électrophorégramme obtenu à pH alcalin présentent le complexe des « caséines α_s » qui a été étudié par RICHARDSON & CREAMER (1975). Ces auteurs ont conclu que le composant principal de la « caséine α_s » caprine était beaucoup plus proche de la caséine α_{s2} bovine (appelée α_{s3} à l'époque) que de la caséine α_{s1} , et qu'il pouvait ne pas exister, chez la chèvre, de caséine α_{s1} . Ces mêmes auteurs ont parfois été plus affirmatifs encore, en concluant à l'absence de caséine α_{s1} dans le lait de chèvre (RICHARDSON *et al.*, 1973 b), ce qui paraît avoir été admis depuis.

Les analyses du polymorphisme génétique des caséines de la chèvre sont rares et superficielles. On peut en particulier considérer qu'aucun polymorphisme génétique n'a encore été démontré au niveau des caséines β et κ . BOGDANOV *et al.* (1972) ont observé, dans 9 laits sur 52 examinés, la présence de 3 bandes dans la zone de la caséine β , une bande plus lente s'ajoutant aux bandes β_1 et β_2 , mais ce polymorphisme n'a pas fait l'objet d'une étude génétique. MÁCHA (1981) fait état d'un polymorphisme génétique de la caséine β dans quatre races de chèvres, mais sa publication, très sommaire, ne comporte aucune illustration et paraît sujette à caution. En ce qui concerne le complexe des caséines α_s , un polymorphisme a été observé par BOGDANOV *et al.* (1972) et, dans quatre races différentes, par RUSSO *et al.* (1977), mais ici encore aucune étude génétique n'a été effectuée.

Le présent travail apporte des éclaircissements sur la nature biochimique et le déterminisme génétique des fractions du « complexe α_s » de la chèvre.

II. Matériel et méthodes

A. Origine et conditionnement des échantillons

Les échantillons de lait proviennent de trois grands troupeaux : le troupeau du domaine expérimental de Brouessy (INRA, 78470 Magny-les-Hameaux) composé d'animaux de race Saanen, celui du domaine expérimental de Galle (INRA, 18800 Avord), près de Bourges, comprenant surtout des animaux de race Alpine chamoisée, à côté de sujets croisés, dérivés des races Alpine chamoisée, Saanen et Poitevine, et celui de la Station de Testage Caprin proche de Moissac (48110 Sainte-Croix Vallée Française) constitué de types génétiques croisés, dérivés des races Alpine chamoisée et Saanen. Ces troupeaux seront désignés ci-après comme étant ceux de Broues-

(1) La chymosine hydrolyse spécifiquement une liaison de la caséine κ , séparant un peptide N-terminal, la « paracaséine κ » (105 résidus) d'un peptide C-terminal, le « caséinomacropéptide » (64 résidus chez la vache, 66 chez la chèvre). L'article de MERCIER *et al.* (1976 b) donne, *in extenso*, la structure du caséinomacropéptide, ainsi que les substitutions d'acides aminés différenciant les paracaséines κ de vache et de chèvre, ce qui permet de déduire, connaissant la structure de la paracaséine κ de vache, celle de la paracaséine κ de chèvre.

sy, Bourges et Moissac. Une première série de prélèvements a été effectuée d'octobre 1972 à juin 1975 sur un total de 942 chèvres (Brouessy : 137 ; Bourges : 316 ; Moissac : 489), une seconde série de novembre 1981 à avril 1983, sur un total de 743 chèvres (Brouessy : 131 ; Bourges : 271 ; Moissac : 341). Au cours de chacune de ces deux périodes le lait d'une partie des chèvres a été prélevé et examiné à plusieurs reprises.

Les échantillons destinés à l'analyse électrophorétique (20 ml environ) ont été additionnés de bichromate de potassium (6 gouttes d'une solution aqueuse à 10 g/litre). Les échantillons plus importants, destinés à l'analyse biochimique, ont également été additionnés de cette solution de bichromate de potassium, dans les mêmes proportions. Les échantillons sont conservés congelés à -20°C environ.

B. *Origine des produits*

L'origine des produits utilisés pour la dégradation automatique d'Edman a été donnée précédemment (GROSCLAUDE *et al.*, 1976). L'origine des autres produits est la suivante : carboxypeptidase A (CoA, DFP, 50 mg/ml), Worthington Biochemical Corporation ; DEAE cellulose microgranulaire DE 32 et CM cellulose microgranulaire CM 32, Whatman ; DEAE Sephadex, Pharmacia.

C. *Techniques d'électrophorèse*

Au tout début de l'étude, les électrophorèses ont été effectuées à partir de solutions de caséines « entières » préparées par la technique rapide d'ASCHAFFENBURG & DREWRY (1959). Comme les protéines majeures du lactosérum (α -lactalbumine et β -lactoglobuline) migrent en dehors de la zone des caséines, les électrophorèses ont ensuite été effectuées directement à partir du lait, écrémé par simple centrifugation. Chaque échantillon a été examiné, en gel d'amidon, dans deux conditions de pH : à pH 8,6 selon WAKE & BALDWIN (1961), et à pH 3,0 avec les tampons de PETERSON & KOPFLER (1966) dilués au demi. Les gels contenaient toujours du 2-mercaptoéthanol (SCHMIDT, 1964) à une concentration d'environ 0,03 M.

D. *Préparation des caséines et chromatographies sur colonne*

La caséine entière a été préparée par la méthode de MERCIER *et al.* (1968) modifiée sur un point : après écrémage, le lait a été dilué au demi avec de l'eau distillée. Les chromatographies sur colonne de DEAE cellulose microgranulaire, ou sur colonne de DEAE-Sephadex, ont été effectuées suivant MERCIER *et al.* (1968), les chromatographies sur colonne de CM-cellulose, suivant RICHARDSON *et al.* (1973 a). Dans la préparation des fractions du complexe des « caséines α_s », la caséine β a été éliminée, avant la première chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose, par la technique de THOMPSON et KIDDY (1964).

E. *Dosages*

Le dosage des acides aminés a été effectué — pour la cystéine après réduction et S-carboxyméthylation selon WOYCHIK (1965) — après hydrolyse acide, comme in-

diqué dans GROSCLAUDE *et al.* (1970), selon SPACKMAN *et al.* (1958), à l'aide d'un analyseur Beckman « Multichrom », équipé pour mesures rapides selon HUBBARD & KREMEN (1964), et couplé à un intégrateur « Spectra Physics Autolab AA ». Les essais de dosage de la teneur en caséine α_{s1} de certains laits ont été effectués, à partir des caséines entières provenant de ces laits, par la méthode de RIBADEAU-DUMAS (1968), ce qui se ramène, puisque la seule caséine α_{s1} est considérée, à un dosage du tryptophane libéré.

F. Autres techniques

La carboxypeptidase A a été utilisée en acétate de N-éthyl-morpholine 0,2 M, pH 8,6. La détermination de la séquence N-terminale de la caséine α_{s1} par la méthode d'Edman à l'aide du séquenceur a été décrite dans GROSCLAUDE *et al.* (1976).

III. Résultats

A. Analyse biochimique : identification des caséines α_{s1} et α_{s2}

1. Description des électrophorégrammes

Après électrophorèse en gel alcalin, les fractions de la caséine de chèvre s'échelonnent, en première analyse, selon 7 niveaux, numérotés de 1 à 7 sur la figure 1 a. Les fractions majeures, situées aux niveaux 6 et 7, correspondent aux deux composants de la caséine β (β_1 et β_2 selon RICHARDSON & CREAMER, 1974). Au niveau 5 se trouve, selon ZITTLE & CUSTER (1966) et ADDEO *et al.* (1978), la fraction principale de la caséine κ . Sur l'ensemble des échantillons étudiés, ni la caséine β , ni la caséine κ ne présentent de variations laissant soupçonner l'existence d'un polymorphisme. Par contre, des variations s'observent aux niveaux 1, 2, 3 et peut-être 4, qui représentent les composants du complexe des « caséines α_s ».

Les divers motifs électrophorétiques observés, peuvent, en simplifiant, se ramener à 5 types différents, numérotés de I à V, dont les caractéristiques sont les suivantes : dans le type I (échantillon représentatif dans la figure 1 a : 1) la fraction 1 prédomine nettement ; dans le type II (échantillon 3) les fractions 1 et 3 ont une intensité plus ou moins comparable ; dans le type III (échantillon 4) les fractions 1 et 2 sont pratiquement absentes ; dans le type IV (échantillon 5) la fraction 1 est absente ; dans le type V (échantillon 10) les fractions 1, 2 et 3 ont une intensité voisine. A noter toutefois que, dans le cas des types I, II et V, il existe des nuances sensibles entre échantillons relevant d'un même type : on comparera par exemple les échantillons 1 et 2, tous deux classés dans le type I. Par ailleurs, le classement de certains échantillons reste difficile : l'échantillon 8, classé dans le type V est assez voisin de l'échantillon 1, de type I. Enfin l'examen attentif de la figure 1 a (échantillons 5 et 6 notamment) suggère, en accord avec les observations faites au cours de l'étude, que les niveaux 2 et 3 pourraient regrouper, chacun, des fractions de mobilité légèrement différente.

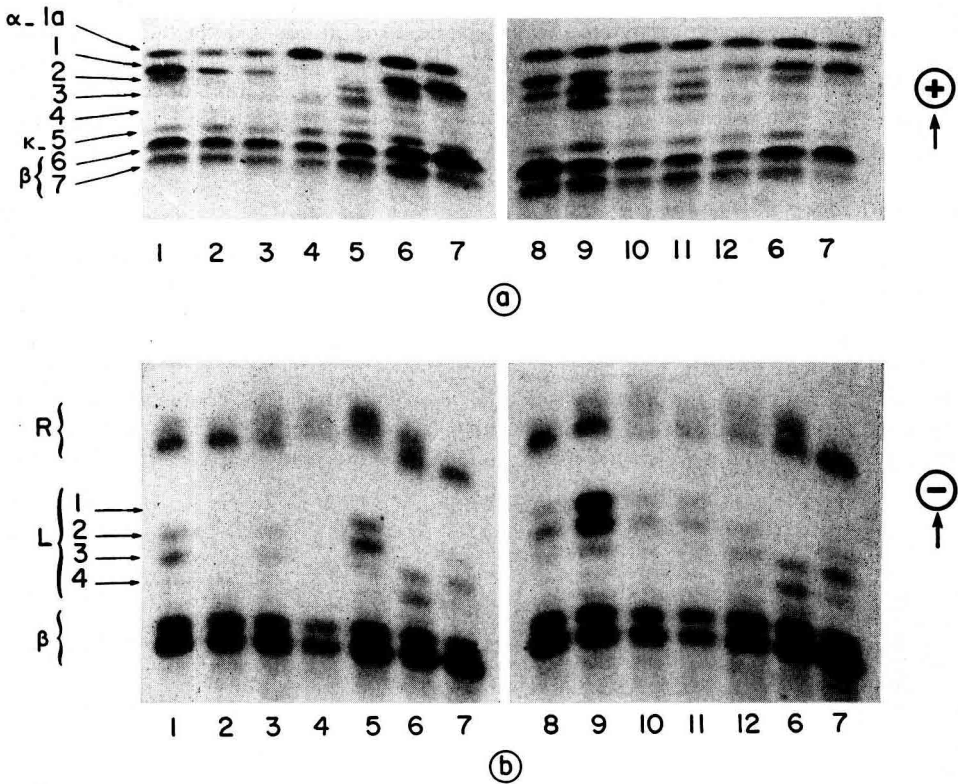


FIG. 1

Electrophorèse en gel d'amidon à pH 8,6 (a) et pH 3 (b) de 12 échantillons individuels de lait de chèvre.

Starch gel electrophoresis at pH 8.6 (a) and pH 3 (b) of milk samples from 12 goats.

Les protéines du lactosérum ne sont pas montrées, sauf, en (a), l' α -lactalbumine (α -La) proche des caséines à pH 8,6. Les échantillons 6 et 7 figurent en double. Il est établi dans ce travail qu'à pH 3, la zone L correspond à la caséine α_{s1} , la zone R à la caséine α_{s2} ; à pH 8,6 les fractions des caséines α_{s1} et α_{s2} migrent dans la même zone (niveaux 1 à 4). Pour l'interprétation de ces électrophorégrammes, voir texte (Résultats, § B).

The proteins of lactoserum are not shown except in (a) where α -lactalbumin (α -La) appears close to casein at pH 8.6. Samples 6 and 7 are shown twice. As shown in the text, at pH 3 zone L correspond to α_{s1} casein and zone R to α_{s2} casein; at pH 8.6 the fractions of α_{s1} and α_{s2} caseins migrate in the same zone (levels 1 to 4). For interpretation of the electrophoregrams see text (Results, § B).

Après électrophorèse en gel acide (fig. 1 b), les fractions d'une mobilité supérieure à celle de la caséine β se répartissent en deux zones bien distinctes (notées R et L). Un polymorphisme s'observe dans chacune de ces zones, accompagné dans la zone L de très nettes variations d'intensité des bandes. On constate que l'électrophorèse en gel acide permet de discriminer des échantillons qui avaient été classés dans le même type après électrophorèse en gel alcalin (échantillons 1 et 2 dans le type I;

échantillons 9 et 10, dans le type V). A noter qu'au total, le lait de quelque 200 chèvres a été reprélevé au cours d'une même lactation, ou au cours de lactations successives, ce qui a permis de vérifier la parfaite répétabilité des électrophorogrammes. L'interprétation de l'ensemble de ces électrophorogrammes s'avérant à ce stade très délicate, une étude biochimique a été entreprise pour tenter d'identifier les composants du complexe des « caséines α_s ».

2. Identification des caséines α_{s1} et α_{s2}

Des essais de fractionnement ont tout d'abord été effectués, par chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose ou de DEAE-Sephadex, à partir d'un échantillon de caséine entière de type I. La figure 2 donne le chromatogramme de l'un de ces essais. L'étude des fractions de ce chromatogramme (fig. 3 a et 3 b) a révélé que le pic II (partie A) contenait la caséine κ , le pic III (partie B) la caséine β_2 et le pic IV (partie C) la caséine β_1 ; la partie ascendante du pic V (partie D) contenait une fraction assez pure, migrant en gel alcalin au niveau 1, et en gel acide, dans la zone L; par contre, l'électrophorèse en gel acide indiquait que le contenu de la fraction des-

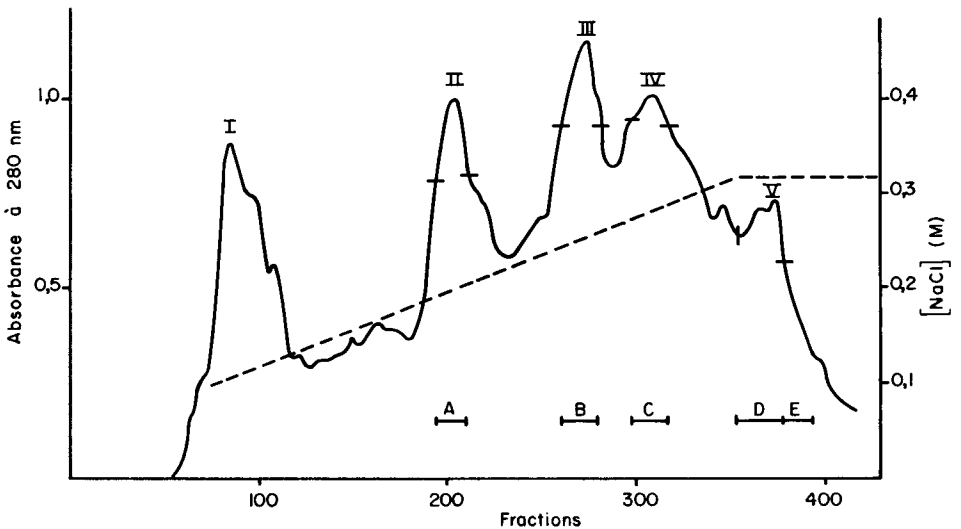


FIG. 2

Chromatographie sur colonne de DEAE-Sephadex (3 × 38 cm) de 1 g de caséine entière caprine de type I.

Chromatography on a DEAE-Sephadex column (3 × 38 cm) of 1 g of type I whole caprine casein.

Gradient de 0,1 à 0,32 M de NaCl (ligne discontinue); vitesse d'élu­tion : 50 ml/h; fraction de 3,5 ml. Le résultat de l'électrophorèse en gel des fractions A, B, C, D, E est donné dans la figure 3 (a et b).

Gradient from 0.1 to 0.32 M NaCl (dotted line); elution rate : 50 ml/h; fractions of 3.5 ml. The result of gel electrophoresis of fractions A, B, C, D, E is given in figure 3 (a and b).

pendante du pic V (partie E) était hétérogène, ses constituants se retrouvant dans les zones R et L. Ces deux classes de constituants ont pu être séparées par chromatographie sur colonne de CM-cellulose (fig. 3 c et 3 d).

TABLEAU 1

Composition en acides aminés des caséines α_{s1} (fraction E2) et α_{s2} (fraction E1) caprines.
Amino acid composition of caprine α_{s1} (fraction E2) and α_{s2} (fraction E1) caseins.

Résidus d'acides aminés	Caséine α_{s1}		Caséine α_{s2}					
	Caprine		Caprine			Bovine		
	Présent travail (fraction E2 ; fig. 3)		Présent travail (fraction E1 ; fig. 3)		Selon RICHARDSON & CREAMER (1975)	α_{s2} A		
Asx	19,50	(19)	15	18,51	(18)	17,20	(17)	18
Thr	4,33	(5)	5	14,10	(14)	14,02	(14)	15
Ser	14,90	(15)	16	14,00	(14)	13,78	(14)	17
Glx	36,24	(36)	39	38,42	(38)	44,75	(45)	40
Pro	21,33	(21)	17	14,52	(14)	17,86	(18)	10
Gly	8,43	(8)	9	2,68	(2)	4,12	(4)	2
Ala	12,27	(12)	9	9,03	(9)	9,63	(10)	8
Val	9,12	(9)	11	13,70	(14)	12,42	(13)	14
1/2 Cys	—	—	—	2,92	(3)	nd		2
Met	3,68	(4)	5	4,62	(5)	4,31	(4)	4
Ile	9,06	(9)	11	11,72	(12)	10,80	(11)	11
Leu	16,95	(17)	17	10,45	(11)	12,40	(12)	13
Tyr	11,30	(11)	10	9,90	(10)	10,90	(11)	12
Phe	7,56	(8)	8	7,06	(7)	7,53	(8)	6
Lys	15,18	(15)	14	23,68	(24)	21,91	(22)	24
His	3,42	(3)	5	5,05	(5)	5,30	(5)	3
Arg	4,96	(5)	6	6,28	(6)	6,44	(6)	6
Trp	nd		2	nd		nd		2
Nombre total de résidus	~ 199		199	~ 207		217		207

Les résultats obtenus par RICHARDSON & CREAMER (1975) pour la caséine α_{s2} sont rappelés. Les valeurs sont données en moles d'acide aminé par mole de protéine en supposant que les caséines α_{s1} et α_{s2} caprines ont le même nombre de résidus que leurs homologues bovines ; entre parenthèses : valeur exacte proposée. Les compositions ont été établies à l'aide de 3 répétitions pour chacun des 3 temps d'hydrolyse habituels (24, 48 et 96 h). nd : non dosé.

The results of RICHARDSON & CREAMER (1975) for α_{s2} casein are shown for comparison. The values are given in moles of amino acid per mole of protein assuming that caprine α_{s1} and α_{s2} caseins have the same number of residues as their bovine homologues ; between brackets : proposed integral value. The compositions were established from 3 replicates of each of the 3 usual hydrolysis times (24, 48 and 96 h). nd : not determined.

Le tableau 1 donne la composition en acides aminés des fractions E1 et E2 montrées dans la figure 3 b, la composition de E1 étant par ailleurs identique à celle trouvée pour la fraction D. On constate que la composition de E1 (cf. notamment

les valeurs pour Thr, Gly, Leu, Lys, ainsi que la présence de cystéine) se rapproche de celle de la caséine α_{s2} bovine et de celle trouvée par RICHARDSON & CREAMER (1975) pour la caséine α_{s2} de chèvre ; par contre, la composition de la fraction E2, dépourvue de cystéine, se rapproche de celle de la caséine α_{s1} bovine. Ces rapprochements sont confirmés par les résultats de l'action de la carboxypeptidase A qui libère, de la fraction E1, de la leucine (0,80) et de la tyrosine (1,33) comme pour la caséine α_{s2} bovine, et de la fraction E2, de la leucine (1,09) et du tryptophane (0,75) comme pour la caséine α_{s1} bovine.

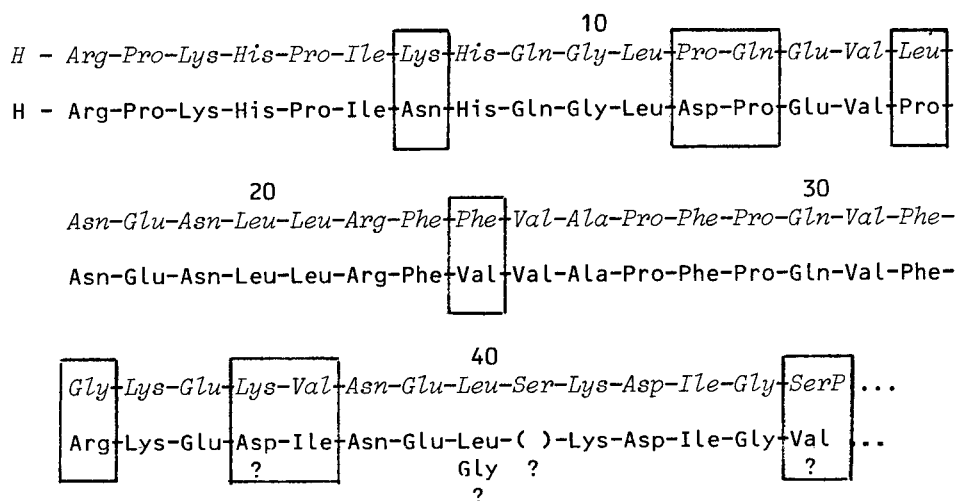


FIG. 4

Séquence N-terminale de la caséine α_{s1} caprine (fraction E2 de la figure 3, c et d) établie par dégradation automatique d'Edman.

N-terminal sequence of caprine α_{s1} -casein (fraction E2 in fig. 3, c and d) established by automatic Edman degradation.

La séquence homologue de la caséine α_{s1} B bovine est en italiques. Les différences entre les séquences bovine et caprine sont encadrées. ? : résidu non identifié, ou non identifié avec certitude ; un polymorphisme (Leu/Gly) paraît exister en position 40 dans la caséine caprine.

The homologous sequence of bovine α_{s1} -casein B is in italics. The differences between the bovine and caprine sequences are in boxes. ? : residue not identified, or not identified with certainty ; a polymorphism (Leu/Gly) may exist, at position 40, in caprine casein.

La figure 4 donne la séquence N-terminale partielle des 46 premiers résidus de la fraction E2, établie par dégradation automatique d'Edman. Cette séquence, qui présente une forte homologie avec la séquence N-terminale de la caséine α_{s1} bovine, confirme, sans ambiguïté, que la fraction E2 représente la caséine α_{s1} de la chèvre. Contrairement à ce qui paraissait admis depuis le travail de RICHARDSON & CREAMER (1975), le lait de chèvre contient donc bien, non seulement de la caséine α_{s2} , mais aussi de la caséine α_{s1} ; dans un échantillon de type I, ces deux caséines sont superposées après électrophorèse en gel alcalin, mais bien séparées après électrophorèse en

gel acide. De manière générale, ce résultat permettait de supposer qu'en gel acide, la zone R représentait la caséine α_{s2} , la zone L la caséine α_{s1} . On notera (fig. 3 c et d) l'hétérogénéité de la caséine α_{s1} (fraction E2) qui s'explique vraisemblablement par un phénomène de phosphorylation incomplète, déjà observé pour les caséines α_{s1} , α_{s2} , et κ bovines (cf. Introduction).

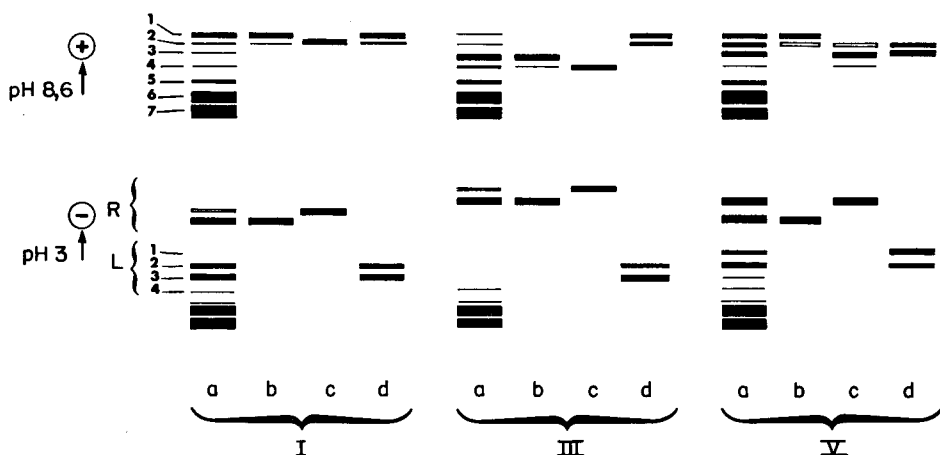


FIG. 5

Electrophorèse à pH 8,6 (en haut) et à pH 3 (en bas) des composants du « complexe α_s » fractionnés à partir de caséines entières des types I, III et V (représentation schématique).

Electrophoresis at pH 8.6 (above) and at pH 3 (below) of the « α_s complex » components separated from whole casein of the I, III and V types (schematic representation).

a : témoin de la caséine entière de départ. Les numérotations, à gauche, sont les mêmes que dans la figure 1. Les fractions b et c ont la composition de la caséine α_{s2} , les fractions d, celle de la caséine α_{s1} .

a : original whole casein control. The numbers on the left are the same as in fig. 1. Fractions b and c have the composition of α_{s2} -casein, fractions d that of α_{s1} -casein.

Pour permettre l'interprétation des électrophorégrammes de la figure 1, le fractionnement des composants du mélange des caséines α_{s1} et α_{s2} a été effectué, sur colonne de DEAE-cellulose, à partir de caséines de type I, III et V, préalablement traitées par la technique de THOMPSON & KIDDY (1964) pour éliminer la caséine β . Les fractions obtenues, en général très contaminées, ont dû être repurifiées, au minimum, par une seconde chromatographie sur colonne de CM-cellulose. La figure 5 récapitule schématiquement les résultats obtenus. Dans les trois types, les fractions b et c, qui migrent dans la zone R en gel acide ont la composition de la caséine α_{s2} , les fractions d, celle de la caséine α_{s1} . La zone R représente donc bien la caséine α_{s2} . A pH 8,6 sa fraction majeure se situe au niveau 1 dans le type I, au niveau 3 dans le type III; on la retrouve, dans le type V étudié, aux niveaux 1 et 3. Ces fractions ont également une mobilité différente en gel acide. En ce qui concerne la caséine α_{s1} , qui se situe à pH 8,6 aux niveaux 1 et 2 dans le type I, et 2 et 3 dans le type V, on note,

dans le cas du type III, une situation particulière : la caséine α_{s1} , qui migre aux niveaux 1 et 2 comme dans le type I, existe ici en quantité réduite au point d'être à peine décelable dans les électrophorogrammes de la caséine entière, à pH 3 comme à pH 8,6.

Pour vérifier cette observation, des essais de dosage de la caséine α_{s1} ont été effectués, à l'aide de la carboxypeptidase A, selon RIBADEAU-DUMAS (1968). Ces essais donnent, pour un lait de type III, 8 p. 100 environ de caséine α_{s1} , contre 25 p. 100 pour un lait de type V (moyenne de 3 répétitions pour 2 échantillons différents de chaque type). L'ensemble de ces résultats biochimiques permet de guider l'interprétation du polymorphisme des caséines α_{s1} et α_{s2} , composant le complexe des « caséines α_s ».

B. Analyse génétique du polymorphisme des caséines α_{s1} et α_{s2}

1. Caséine α_{s1}

L'analyse est ici compliquée par l'incidence de variations quantitatives, évidentes sur les électrophorogrammes obtenus en gel acide (fig. 1 b). En ce qui concerne les échantillons à taux « normal » de caséine α_{s1} , l'étude biochimique a montré que, dans le type I, la caséine α_{s1} comportait à pH 8,6 deux bandes (ou deux bandes principales) situées aux niveaux 1 et 2. Il a été observé par ailleurs au cours de ce travail, que tous les laits de type IV et V, donc tous les laits présentant à pH 8,6 des bandes bien marquées aux niveaux 2 et 3 au moins, possédaient à pH 3, et au niveau 1, une bande absente dans les autres laits. Comme le montre l'étude biochimique d'un échantillon de type V (fig. 5), ceci s'explique par le fait que, dans ces laits, la caséine α_{s1} se situe, à pH 8,6, aux niveaux 2 et 3, et à pH 3, aux niveaux 1 et 2. Ces observations suggèrent l'existence de deux variants, l'un rapide, A, l'autre lent, B, qui pourraient se trouver à l'état homozygote dans les échantillons 1 et 9 (fig. 1 b). Par ailleurs, dans quelques laits, la caséine α_{s1} comporte, à pH 3, deux bandes localisées aux niveaux 3 et 4 (échantillon 6, fig. 1 b), ce qui suggère l'existence d'un troisième variant, plus lent que B en gel acide et de mobilité identique en gel alcalin.

La figure 6 présente schématiquement, et sous les hypothèses précédentes, l'interprétation qui peut être donnée des phénotypes de la caséine α_{s1} observés en gel acide (le phénotype attendu BC n'a pas été observé avec certitude), et les phénotypes correspondants en gel alcalin. La prise en compte des variations quantitatives compliquerait ce schéma. On a vu qu'un échantillon de type III, représentant un type nul de caséine α_{s1} (fig. 5), contenait toutefois une quantité réduite de caséine α_{s1} , ayant les propriétés électrophorétiques du variant B. On peut donc supposer que c'est le taux de synthèse de ce variant qui peut être affecté.

La vérification des hypothèses précédentes est rendue difficile par un écheveau de complications : le caractère considéré est limité par le sexe ; les familles disponibles dans les trois troupeaux sont réduites (moyenne de 3,7 couples mère-fille informatifs par bélier avec un maximum de 13 couples) ; le classement de certains échantillons n'est pas évident, par suite des variations quantitatives. L'étude du déterminisme du variant B et des variations quantitatives qui sont supposées l'affecter n'a pu, pour ces raisons, être conclue jusqu'ici. Par contre, l'étude du déterminisme génétique des variants A et C a pu être abordée dans la descendance de quelques boucs transmettant

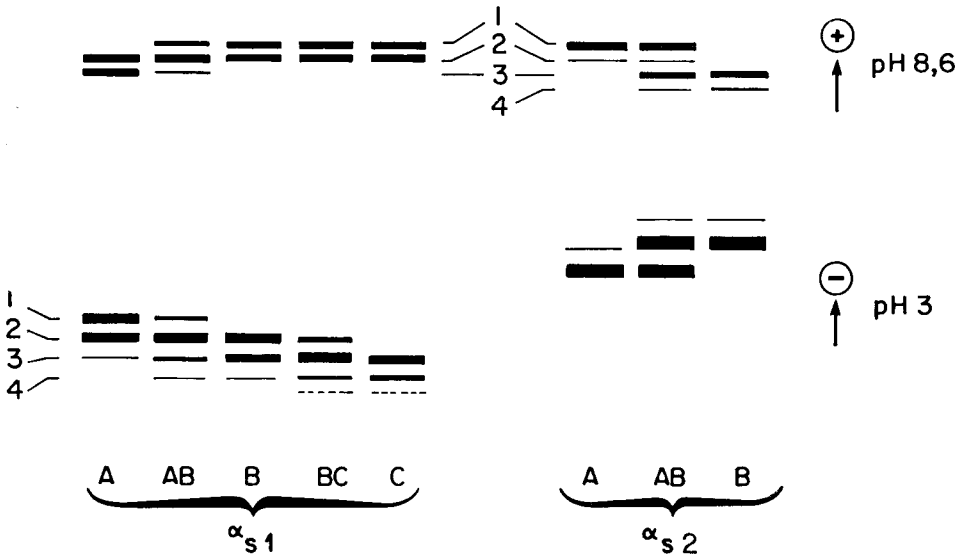


FIG. 6

Représentation schématique des phénotypes des caséines α_{s1} et α_{s2} observés après électrophorèse à pH 3 (en bas) et des phénotypes correspondants qui seraient observés à pH 8,6 si les zones de migration des caséines α_{s1} et α_{s2} n'étaient pas confondues (en haut).

Ce schéma ne prend pas en compte les variations quantitatives de la caséine α_{s1} .

Diagrammatic representation of the phenotypes of α_{s1} and α_{s2} caseins observed after electrophoresis at pH 3 (below) and of the corresponding phenotypes that would be observed at pH 8.6 if the migration zones of α_{s1} and α_{s2} casein were not superimposed (above).

This diagram does not take into account the quantitative variations of α_{s1} casein.

l'un de ces variants à une partie de leurs filles seulement, donc apparemment hétérozygotes, et dans celle de chèvres de phénotype supposé hétérozygote, accouplées à des boucs ne transmettant pas eux-mêmes le variant : au total, 6 boucs transmettent 18 fois le variant A sur 31 gamètes, et 13 chèvres 7 fois, sur 13 gamètes ; par ailleurs, 1 bouc transmet 4 fois le variant C sur 7 gamètes, et 9 chèvres, 4 fois, sur 9 gamètes. Ces proportions ne sont pas significativement différentes de 1/2. Les variants A et C, qui se comportent donc comme des caractères mendéliens simples, sont, de toute évidence, déterminés par deux allèles du locus α_{s1} -Cn, α_{s1} -Cn^A et α_{s1} -Cn^C. Les fréquences de ces allèles, calculées dans les trois troupeaux pour les animaux examinés en 1983, sont données dans le tableau 3, où (B) désigne par ailleurs l'ensemble résiduel restant à étudier (variant B et sa, ou ses formes à taux de synthèse réduit). Les fréquences de l'allèle α_{s1} -Cn^A sont remarquablement voisines dans les trois troupeaux. L'allèle α_{s1} -Cn^C, présent en race Saanen, n'a pas été trouvé chez des animaux de race Alpine. A noter que la proportion de chèvres produisant un lait à faible taux de caséine α_{s1} , types nuls compris, est respectivement de 27, 33 et 47 p. 100 dans les trois troupeaux.

2. Caséine α_{s2}

L'analyse biochimique précédente et l'examen des électrophorogrammes permettent d'identifier, au niveau de la caséine α_{s2} , un polymorphisme classique à deux variants. A pH 8,6, la fraction majeure du variant rapide, A, se situe au niveau 1, celle du variant B au niveau 3 (fig. 6). Ces variants sont également séparés à pH 3, mais migrent dans l'ordre inverse (B plus rapide que A). Malheureusement, dans les conditions d'électrophorèse utilisées, qui n'ont pu être améliorées, l'image du variant B en gel acide est floue, ce qui ne facilite pas la lecture. Toutefois, l'interprétation des phénotypes de la caséine α_{s2} peut se faire dans la plupart des cas sans ambiguïté, en s'appuyant sur les motifs électrophorétiques observés aux deux pH.

TABLEAU 2

Déterminisme génétique du polymorphisme de la caséine α_{s2} .
Genetic control of the polymorphism of α_{s2} casein.

Phénotypes des parents	Phénotypes des produits						χ^2
	A		AB		B		
♀ A × ♂ AB	51	<i>52</i>	53	<i>52</i>	—	—	0,04 ns
♀ AB × ♂ A	21	<i>17,5</i>	14	<i>17,5</i>	—	—	1,40 ns
♀ AB × ♂ AB	8	<i>7</i>	10	<i>14</i>	10	<i>7</i>	2,57 ns
♀ B × ♂ AB	—	—	4	<i>3,5</i>	3	<i>3,5</i>	— ns

La transmission des variants A et B est étudiée dans des familles (père, mère, fille). En italiques : valeurs attendues dans l'hypothèse d'un déterminisme mendélien simple.

The transmission of variants A and B was studied in families (sire, dam, daughter). In italics : values expected with a hypothesis of simple mendelian inheritance.

Le tableau 2 récapitule les résultats de l'analyse génétique du polymorphisme de la caséine α_{s2} . Les deux variants sont transmis selon un mode mendélien simple. On peut admettre qu'ils sont, selon toute vraisemblance, sous le contrôle de deux allèles, α_{s2} -Cn^A et α_{s2} -Cn^B, du locus de structure de la caséine α_{s2} , α_{s2} -Cn. Le tableau 3 donne les fréquences alléliques calculées dans les trois troupeaux ; elles sont remarquablement voisines, alors que le troupeau de Brouessy est de race Saanen, celui de Bourges de race Alpine. A noter que, dans les trois troupeaux, les proportions des 3 génotypes sont conformes à la loi de HARDY-WEINBERG (non donné).

TABLEAU 3

Fréquences alléliques aux loci α_{s1} -Cn et α_{s2} -Cn dans 3 troupeaux caprins.
Allelic frequencies at loci α_{s1} -Cn and α_{s2} -Cn in 3 caprine flocks.

Troupeaux	Types génétiques	Effectifs	Fréquences alléliques				
			α_{s1} -Cn			α_{s2} -Cn	
			A	(B)	C	A	B
Bourges	<i>Alpine</i>	163	0,10	0,90	—	0,85	0,15
Brouessy	<i>Saanen</i>	89	0,08	0,89	0,03	0,87	0,13
Moissac	Hétérogène	282	0,10	0,89	0,01	0,85	0,15

(B) : ensemble constitué de deux formes au moins du variant B différant par leur taux de synthèse.

(B) : group including at least two forms of the B variant with a different synthesis rate.

3. Interprétation des électrophorogrammes obtenus en gel alcalin

L'ensemble des résultats précédents permet d'interpréter avec précision les divers motifs électrophorétiques observés à pH 8,6 au niveau du complexe des « caséines α_s », et représentés dans la figure 1 a :

— les échantillons 1 et 2 (type I) sont tous deux homozygotes pour l'allèle α_{s2} -Cn^A ; ils diffèrent par leur teneur en caséine α_{s1} ;

— les échantillons 3 et 12 (type II) sont hétérozygotes au locus α_{s2} -Cn ; l'intensité un peu plus élevée de la bande 1 est due à la caséine α_{s1} (variants B ou C) ;

— les échantillons 4 (type III) et 5 (type IV) sont tous deux homozygotes pour l'allèle α_{s2} -Cn^B, mais 4 est de type nul pour la caséine α_{s1} , alors que 5 possède le variant A ;

— l'échantillon 6 (type I ou type V ?) est homozygote au locus α_{s2} -Cn pour α_{s2} -Cn^A, et possède le variant C de la caséine α_{s1} (épaississement des niveaux 1 et 2) ;

— l'échantillon 7 (type I) est homozygote au locus α_{s2} -Cn pour α_{s2} -Cn^A, et paraît hétérozygote (B/C) au niveau de la caséine α_{s1} ;

— la comparaison des échantillons 8 à 11 (type V) est intéressante. Ces échantillons possèdent tous, en effet, le variant α_{s1} -Cn A (niveaux 2 et 3 à pH 8,6), mais la teneur varie beaucoup, l'échantillon 9 pouvant être homozygote. Par ailleurs, 8 et 9 sont homozygotes au locus α_{s2} -Cn, 10 et 11, hétérozygotes.

4. Liaison entre les loci α_{s1} -Cn et α_{s2} -Cn

Seuls 4 boucs, pères de familles assez réduites, se sont avérés simultanément hétérozygotes au locus α_{s1} -Cn (avec l'allèle α_{s1} -Cn^A) et α_{s2} -Cn. Dans la descendance de ces boucs, 12 couples mère-fille sont informatifs : on constate que les gamètes de ces boucs, qui ne sont pas directement apparentés, n'ont transmis que 2 combinaisons : α_{s1} -Cn^A, α_{s2} -Cn^B (7 fois) et α_{s1} -Cn^(B), α_{s2} -Cn^A (5 fois). Ce résultat (probabilité de survenue dans l'hypothèse d'indépendance des deux loci : 1/4000 environ) suggère que les loci α_{s1} -Cn et α_{s2} -Cn sont liés chez la chèvre, comme chez la vache.

IV. Discussion

RICHARDSON & CREAMER (1975) ont effectué leurs travaux sur la « caséine α_s » caprine en partant du lait d'une seule chèvre. On peut penser que ce dernier était un lait à faible teneur en caséine α_{s1} (type nul), ce qui expliquerait pourquoi RICHARDSON & CREAMER n'y ont pas décelé la présence de cette caséine. Tout au contraire, nos résultats sur les caséines α_{s1} et α_{s2} contribuent à faire apparaître une forte similitude entre le système des caséines de la chèvre et celui de la vache : on retrouve dans le lait de chèvre les quatre mêmes espèces de caséines que dans celui de vache, et l'indice d'une liaison génétique entre les loci α_{s1} -Cn et α_{s2} -Cn suggère, comme on pouvait s'y attendre, que l'organisation génétique est la même dans les deux espèces.

Nos résultats montrent également qu'il n'y a pas grand sens à effectuer une analyse du polymorphisme du complexe des « caséines α_s » à partir des seuls électrophorogrammes obtenus à pH alcalin, comme l'ont fait BOGDANOV *et al.* (1972) et RUSSO *et al.* (1977), puisque, dans ces conditions, on observe en fait la superposition de variations contrôlées par deux loci différents, α_{s1} -Cn et α_{s2} -Cn. Il est donc indispensable d'effectuer également des électrophorèses en gel acide. Il serait d'ailleurs utile de mettre au point une technique d'électrophorèse en gel acide mieux adaptée à l'analyse du polymorphisme des caséines caprines que celle mise en œuvre dans ce travail, pour obtenir une meilleure résolution des bandes de la caséine α_{s2} .

La différence de mobilité entre les variants α_{s2} -Cn A et α_{s2} -Cn B à pH alcalin ne peut visiblement être due à la substitution d'un seul acide aminé ; elle pourrait s'expliquer, par exemple, par une différence de deux groupements phosphate, hypothèse qui conduirait à rechercher cette différence dans une région de la chaîne polypeptidique comportant une grappe de résidus phosphoséryle, comme il en existe dans la caséine α_{s2} bovine (BRIGNON *et al.*, 1977). Le variant α_{s1} -Cn C pourrait différer du variant α_{s1} -Cn B par une substitution d'acides aminés impliquant un résidu histidyle, puisque les deux variants ne se distinguent — par une charge apparemment — qu'à pH acide. Si la fraction lente du variant α_{s1} -Cn A et la fraction rapide du variant α_{s1} -Cn B migraient effectivement au même niveau, ces deux variants pourraient différer par un groupement phosphate ; par contre si ces deux fractions avaient une mobilité légèrement différente, comme semble l'indiquer la comparaison des échantillons 5 et 6 de la figure 1 a, une autre explication devrait être recherchée.

Le résultat le plus intéressant de ce travail est sans conteste la mise en évidence de variations nettes et répétables dans la teneur des laits individuels en caséine α_{s1} . L'étude du mécanisme moléculaire de ce phénomène mériterait d'être entreprise. En outre, plusieurs questions intéressantes peuvent être posées : la réduction du taux de synthèse de la caséine α_{s1} est-elle compensée par une élévation du taux de synthèse des autres caséines, ou, au contraire, a-t-elle pour conséquence une diminution de la teneur des laits en caséine ? ; existe-t-il entre les laits à teneur « élevée » et les laits à teneur faible en caséine α_{s1} des différences significatives dans la structure des micelles de caséine, donc peut-être dans les propriétés technologiques des laits ? ; comment peut-on expliquer que la proportion de chèvres produisant un lait à faible teneur en caséine α_{s1} atteigne le niveau mis en évidence dans les troupeaux étudiés ?

Toutefois, au stade actuel, l'étude du déterminisme génétique des variations quan-

titatives de la caséine α_{s1} reste à faire. Elle exige la collecte d'un nombre supplémentaire d'échantillons de lait dans des familles suffisamment nombreuses, et, surtout, la mise au point d'une technique permettant de mesurer avec précision la teneur en caséine α_{s1} des laits de chèvre. Des recherches dans ce sens sont en cours dans notre équipe.

Reçu le 24 août 1983.

Accepté le 30 novembre 1983.

Remerciements

Nous remercions MM. J. BOUILLON (Moissac), P. GUILLIMIN (Bourges), B. MIRMAN (Brouessy) et leurs équipes pour l'envoi répété d'échantillons de lait, ainsi que J.-C. MERCIER et G. HAZE pour leur aide dans la mise en œuvre du Séquenceur.

Références bibliographiques

- ADDEO F., SOULIER S., PELISSIER J.P., CHOBERT J.M., MERCIER J.C., RIBADEAU-DUMAS B., 1978. Preparation and fractionation of goat κ -casein : analysis of the glycan and peptide components. *J. Dairy Res.*, **45**, 191-196.
- ASCHAFFENBURG R., DREWRY J., 1959. New procedure for the routine determination of the various non casein proteins in milk. *XV Int. Dairy Congr.*, **3**, Sect. 5, 1631-1637.
- BOGDANOV L.V., POLYAKOVSKII V.I., LAZOVSKII A.A., MARTSINKEVICH I.S., POGONYAILO D.I., NIKONCHIK L.I., ZOTOVA V.S., TROSCHENKO L.V., DZHUMKOV V.A., 1972. Polymorphisme génétique de quelques protéines du sang et du lait chez le bétail de Biélorussie (en russe). *Byull. Nauchn. Rabot. Vses. Nauchno-Issled. Inst. Zhivot.*, **26**, 42-48.
- BOULANGER A., 1976. *Etude biochimique et génétique des protéines du lait de chèvre (Capra hircus)*. Thèse de doctorat de 3^e cycle, Université de Paris VII.
- BRIGNON G., RIBADEAU-DUMAS B., MERCIER J.C., PELISSIER J.P., 1977. Complete amino-acid sequence of bovine α_{s2} -casein. *F.E.B.S. Lett.*, **76**, 274-279.
- DAVIES D.T., LAW A.J.R., 1977. An improved method for the quantitative fractionation of casein mixtures using ion-exchange chromatography. *J. Dairy Res.*, **44**, 213-221.
- GROSCLAUDE F., 1974. *Analyse génétique et biochimique du polymorphisme électrophorétique des caséines α_{s1} , β et κ chez les bovins (Bos taurus) et les zébus (Bos indicus)*. Thèse de doctorat d'Etat es sciences, Université de Paris VII.
- GROSCLAUDE F., 1979. Polymorphism of milk proteins : some biochemical and genetical aspects. *Proc. 18th Int. Conf. Anim. Blood Grps (Leningrad, 1978)*, **1**, 54-92.
- GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., MERCIER J.C., BONNEMAIRE J., TEISSIER J.H., 1976. Polymorphisme des lactoprotéines des bovinés népalais. I. - Mise en évidence, chez le Yak, et caractérisation biochimique de deux nouveaux variants : β -lactoglobuline D_{Yak} et caséine α_{s1E} . *Ann. Génét. Sél. Anim.*, **8**, 461-479.
- GROSCLAUDE F., MERCIER J.C., RIBADEAU-DUMAS B., 1970. Structure primaire de la caséine α_{s1} bovine. Localisation des peptides tryptiques dans les fragments obtenus par hydrolyse tryptique de la caséine maléylée. *Eur. J. Biochem.*, **14**, 98-107.
- HUBBARD R.W., KREMEN D., 1964. Increased sensitivity of accelerated amino acid ion exchange chromatography. *Fed. Proc.*, **23**, 372.
- MÁCHA J., 1981. Genetic polymorphism of proteins in goat milk and the performance of goat (en tchèque). *Acta Univ. Agric., Fac. Agron. Brno*, **29**, 233-237.

- MAHÉ M.F., GROSCLAUDE F., 1982. Polymorphisme de la caséine α_{s2} des Bovidés : caractérisation du variant C du Yak (*Bos grunniens*). *Ann. Génét. Sél. Anim.*, **14**, 401-416.
- MANSON W., CAROLAN T., ANNAN W.D., 1977. Bovine α_{s0} -casein ; a phosphorylated homologue of α_{s1} -casein. *Eur. J. Biochem.*, **78**, 411-417.
- MERCIER J.C., 1981. Phosphorylation of caseins. Present evidence for an amino acid triplet code post-translationally recognized by specific kinases. *Biochimie*, **63**, 1-17.
- MERCIER J.C., ADDEO F., PELISSIER J.P., 1976 a. Structure primaire du caséinomacropéptide de la caséine κ caprine. *Biochimie*, **58**, 1303-1310.
- MERCIER J.C., BRIGNON G., RIBADEAU-DUMAS B., 1973. Structure primaire de la caséine κ B bovine. Séquence complète. *Eur. J. Biochem.*, **35**, 222-235.
- MERCIER J.C., CHOBERT J.M., ADDEO F., 1976 b. Comparative study of the amino acid sequences of the caseinomacropéptides from seven species. *F.E.B.S. Lett.*, **72**, 208-214.
- MERCIER J.C., GROSCLAUDE F., RIBADEAU-DUMAS B., 1971. Structure primaire de la caséine α_{s1} bovine. Séquence complète. *Eur. J. Biochem.*, **23**, 41-51.
- MERCIER J.C., MAUBOIS J.L., POZNAŃSKI S., RIBADEAU-DUMAS B., 1968. Fractionnement préparatif des caséines de vache et de brebis par chromatographie sur DEAE-cellulose, en milieu urée et 2-mercapto-éthanol, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **50**, 521-530.
- PETERSON R.F., KOPFLER F.C., 1966. Detection of new types of β -casein by polyacrylamide gel electrophoresis at acid pH : a proposed nomenclature. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **22**, 388-392.
- PUJOLLE J., RIBADEAU-DUMAS B., GARNIER J., PION R., 1966. A study of κ -casein components. I. - Preparation. Evidence for a common C-terminal sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **25**, 285-290.
- RIBADEAU-DUMAS B., 1968. Simultaneous determination of α_{s1} -, β -, and κ -caseins in whole casein by using carboxypeptidase A. *Biochim. Biophys. Acta*, **168**, 274-281.
- RIBADEAU-DUMAS B., BRIGNON G., GROSCLAUDE F., MERCIER J.C., 1972. Structure primaire de la caséine β bovine. Séquence complète. *Eur. J. Biochem.*, **25**, 505-514.
- RICHARDSON B.C., CREAMER L.K., 1974. Comparative micelle structure. III. - The isolation and chemical characterization of caprine β_1 -casein and β_2 -casein. *Biochim. Biophys. Acta*, **365**, 133-137.
- RICHARDSON B.C., CREAMER L.K., 1975. Comparative micelle structure. IV. - The similarity between caprine α_s -casein and bovine α_{s3} -casein. *Biochim. Biophys. Acta*, **393**, 37-47.
- RICHARDSON B.C., CREAMER L.K., MUNFORD R.E., 1973 a. Comparative micelle structure. I. - The isolation and chemical characterization of caprine κ -casein. *Biochim. Biophys. Acta*, **310**, 111-117.
- RICHARDSON B.C., CREAMER L.K., MUNFORD R.E., 1973 b. The composition and properties of caprine (goat) casein. *XIX Int. Dairy Congr.*, **1 E**, 268.
- RUSSO V., CHIOFALO L., MICARI P., 1977. Esame elettroforetico delle proteine del latte in popolazioni caprine allevate in Sicilia. *Zootec. Nutr. Anim.*, **3**, 247-253.
- SCHMIDT D.C., 1964. Starch gel electrophoresis of κ -casein. *Biochim. Biophys. Acta*, **90**, 411-414.
- SCHMIDT D.G., BOTH P., DE KONING P.J., 1966. Fractionation and some properties of κ -casein variants. *J. Dairy Sci.*, **49**, 776-782.
- SPACKMAN D.H., STEIN W.H., MOORE S., 1958. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, **30**, 1190-1206.
- THOMPSON M.P., KIDDY C.A., 1964. Genetic polymorphism in caseins of cow's milk. III. - Isolation and properties of α_{s1} -caseins A, B and C. *J. Dairy Sci.*, **47**, 627-632.
- VREEMAN H.J., BOTH P., BRINKHUIS J.A., VAN DER SPEK O., 1977. Purification and some physico chemical properties of bovine κ -casein. *Biochim. Biophys. Acta*, **491**, 93-103.
- WAKE R.G., BALDWIN R.L., 1961. Analysis of casein fractions by zone electrophoresis in concentrated urea. *Biochim. Biophys. Acta*, **47**, 225-239.
- WOYCHIK J.H., 1965. Preparation and properties of reduced κ -casein. *Arch. Biochem. Biophys.*, **109**, 542-547.
- ZITTLE C.A., CUSTER J.H., 1966. Identification of the κ -casein among the components of whole goat casein. *J. Dairy Sci.*, **49**, 788-791.