ITEA (1999), Vol. **95A N.° 2,** 143-179

POLIMORFISMO GENÉTICO DE LAS LACTOPROTEÍNAS DE LOS RUMIANTES DOMÉSTICOS-REVISIÓN

A. Barroso
S. Dunner
J. Cañón

Laboratorio de Genética Molecular
Departamento de Producción Animal
Facultad de Veterinaria
Avda. Puerta de Hierro, s/n
28040 Madrid
España

RESUMEN

En este trabajo, se revisan los conocimientos existentes sobre las estructuras proteicas y moleculares y el descubrimiento y caracterización de variantes genéticas en las seis proteínas intrínsecas de la leche de vaca (*Bos taurus*), de cabra (*Capra hircus*) y de oveja (*Ovis aries*): las caseínas α_{s1}, α_{s2}, β y *k*, así como las proteínas séricas α-lactoalbúmina y β-lactoglobulina. Los estudios están mucho más avanzados en la *especie bovina*, para la que existe evidencia de polimorfismo genético en todas las lactoproteínas, con un número de alelos que oscila entre cuatro (caseína α_{s2}) y doce (β-lactoglobulina). Si bien algo más confusos, los trabajos sobre *caprino* confirman asimismo el carácter polimórfico de todas las proteínas lácteas; en esta especie, sin embargo, el complejo polimorfismo cuantitativo y cualitativo de la caseína α_{s1}, con un mínimo de siete variantes proteicas y doce alelos autosómicos, y sin parangón con el resto de las lactoproteínas de los rumiantes domésticos, ha polarizado casi todos los esfuerzos investigadores. Por lo que respecta a la *especie ovina*, la información es aún más controvertida y dispersa: actualmente está fuera de toda duda el carácter polimórfico de las caseínas α_{s1} y α_{s2}, así como de las dos seroproteínas mayoritarias, mientras que la heterogeneidad electroforética observada en las caseínas β y *k* de esta especie se atribuye a diferentes modificaciones post-traduccionales. En las ovejas, se ha descrito una fuente adicional de polimorfismo no genético de las caseínas α_s, que coexisten en la leche como dos proteínas de diferente longitud. Más adelante, se insiste sobre la importancia del marcado desequilibrio de ligamiento que existe entre los genes de las cuatro caseínas –concepto de *haplotipo*–. Finalmente, se mencionan los estudios de asociación entre determinadas variantes y diversas propiedades físico-químicas y tecnológicas de la leche, que justifican el interés de su detección temprana en programas de selección o con fines industriales.

Palabras clave: Variantes Genéticas, Caseínas, Proteínas del Suero Lácteo, Haplotipo.

SUMMARY

GENETIC POLYMORPHISM OF THE LACTOPROTEINS IN DOMESTIC RUMINANTS - A REVIEW

In this work, we review current knowledge on protein and molecular structures of lactoproteins, as well as the discovery and characterization of genetic polymorphism in the six major lactoproteins of cow (*Bos taurus*), goat (*Capra hircus*), and sheep (*Ovis aries*): α_{s1}, α_{s2}, β, and *k* caseins, and seroproteins α-lactalbumin and β-lactoglobulin. Research is much more advanced in the bovine species, where evidence of genetic variability of all these proteins exists, the number of alleles ranging from four (α_{s2} casein) to twelve (β-lactoglobulin). Although more confusing, studies in goats also confirm the polymorphic status of the whole family of lactoproteins. In this species, however, attention has been drawn to the unusual complexity of α_{s1}-casein polymorphism, which is under control of at least seven protein variants and twelve autosomal alleles. Moreover, these variants influence α_{s1}-casein content in milk and thus exert a quantitative effect on the overall protein yield. As far as the ovine species is concerned, available information is still more controversial: it is nowadays evident the existence of genetic polymorphism in both α_s-caseins, α-lactalbumin, and β-lactoglobulin, whereas electrophoretic heterogeneity observed in case of β and *k* caseins is due to distinct post-translational events. In sheep, an additional source of non-genetic polymorphism has been described for α_s-caseins, which coexist in milk as two proteins of different lengths. The relevance of the tight linkage disequilibrium existing among the four casein genes is further on emphasized –the *haplotype* concept–. Finally, we revise studies that correlate certain casein variants and various physico-chemical and technological properties of milk, which justify the interest of early allelic detection in breeding or industrial programs.

Key words: Genetic Variants, Caseins, Whey Proteins, Haplotype.

Alimento exclusivo del mamífero neonato, la leche es, desde un punto de vista químico, un sistema complejo constituido por dos fases líquidas, físicamente homogéneas: una *fase acuosa o lactosuero,* con elementos en *suspensión coloidal* –las *micelas* de caseína– o en *disolución*; y una *emulsión lipídica,* entre las que se reparten los diferentes componentes de naturaleza glucídica, lipídica, proteica y mineral.

Los niveles de las proteínas de la leche o *lactoproteínas,* a diferencia de lo que ocurre en la fracción lipídica, están determinados prácticamente sólo por factores genéticos. Este hecho, unido a la importancia capital que tienen en la tecnología quesera, las ha hecho merecedoras de un notable esfuerzo investigador durante las últimas cuatro décadas, de tal forma que, actualmente, las lactoproteínas constituyen uno de los grupos moleculares mejor conocidos.

Esta revisión se centra en el estado actual de los conocimientos sobre polimorfismo genético de las proteínas intrínsecas de la leche –es decir, aquéllas que son sintetizadas exclusivamente en la glándula mamaria– de los rumiantes domésticos, que podemos dividir en dos grandes grupos:

* *Caseínas*: fosfoproteínas que precipitan por acidificación a un pH 4,6 a una temperatura de 20°C. Son cuatro: α_{s1} (en la nomenclatura internacional: CSN1S1,

CASAS1), α_{s2} (CSN2S2, CASAS2), β (CSN2, CASB) y *k* (CSN3, CASK).

* *Proteínas del lactosuero*: grupo de proteínas que permanecen en solución en el suero lácteo después de la precipitación de las caseínas a pH 4,6 a 20°C. Son dos: α-lactoalbúmina (α-La, LALBA) y β-lactoglobulina (β-g, BLG).

Síntesis y secreción de las proteínas lácteas

Las proteínas de la leche, sintetizadas como pre-proteínas, sufren una serie de modificaciones covalentes durante su transporte a través del citoplasma de la célula mamaria (figura 1): *modificaciones co-traduccionales* (hidrólisis enzimática del péptido señal, formación de puentes disulfuro) en el Retículo Endoplasmático Rugoso; y *post-traduccionales* (fosforilación de las caseínas, glicosilación de la *k*-caseína) en las vesículas del aparato de Golgi (MERCIER *et al.*, 1990). En esta organela tienen lugar también la síntesis de la lactosa y el empaquetamiento de caseínas y fosfato cálcico en submicelas y micelas, que son englobadas en vesículas secretoras y vertidas al exterior por exocitosis (figura 1).

Tanto el inicio como el mantenimiento de la lactación están bajo el control de un complejo multihormonal de efectos galactopoyéticos, que podemos dividir en dos grandes grupos: hormonas (prolactina, oxitocina) cuyas concentraciones plasmáticas varían notablemente en el curso de la lactación y, por ende, están estrechamente ligadas al control de la producción de leche; y hormonas que intervienen de forma más indirecta, como la hormona de crecimiento, las somatomedinas, las hormonas tiroideas, la insulina, los corticoides suprarrenales o el factor de crecimiento epidermoide (OLLIVIER-BOUSQUET, 1993).

Composición química de las caseínas

Desde el punto de vista químico, las caseínas presentan unos rasgos muy particulares que las diferencian del resto de las proteínas:

– Son heteroproteínas, al estar fosforiladas en mayor o menor grado en residuos de serina (S) y ocasionalmente de treonina (T) (SWAISGOOD, 1992). La *k*-caseína, además, está parcialmente glicosilada. Por lo tanto, las caseínas α_{s1}, α_{s2} y β son fosfoproteínas mientras que la *k*-caseína es una fosfoglucoproteína. Cada tipo de caseína tiene un número característico de grupos fosfato formando parte de su estructura: 8 ó 9 la α_{s1}, 10-13 la α_{s2}, 4 ó 5 la β y tan sólo 1 la *k* (EIGEL *et al.*, 1984).

– Siendo todas ellas básicamente hidrófobas, la distribución de los aminoácidos cargados y neutros no es uniforme dentro de la molécula, por lo que presentan regiones altamente polares en medio de amplias zonas apolares (ROLLEMA, 1992). Ambas propiedades explican su tendencia a la auto-asociación para formar las micelas.

– Precipitan acidificando el pH de la leche hasta 4,6 a una temperatura de 20°C, mientras que las proteínas del lactosuero permanecen en solución en esas condiciones. Una forma práctica de hacer un primer fraccionamiento de la caseína total es aprovechar la solubilidad diferencial de las caseínas al calcio, separando las que precipitan con un tratamiento de calcio 250 mM a pH neutro a 37°C de las que permanecen en solución (WAUGH y VON HIPPEL, 1956): en estas condiciones, la *k*-caseína es la única que no precipita, lo que ha dado lugar

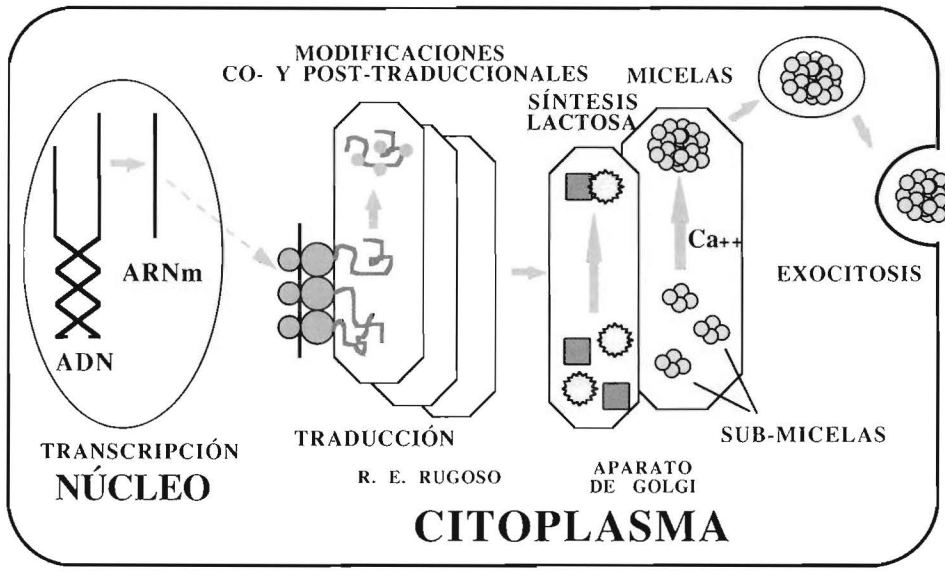


Figura 1. Síntesis, transporte, modificaciones citoplasmáticas y secreción de las proteínas lácteas. Las modificaciones co-traduccionales hacen referencia a la proteolisis del péptido señal, la formación de puentes disulfuro intercatenarios, así como la glucosilación de la α-La; las modificaciones post-traduccionales incluyen la fosforilación de las cuatro caseínas y glicosilación de la *k*-caseína. Lactosa = glucosa + galactosa

Figure 1. Synthesis, transport, cytoplasmic modifications and secretion of lactoproteins. Co-translational events refer to proteolysis of the signal peptide, the appearance of interchain disulfide bonds, and α-lactalbumin glycosylation; post-translational modifications include casein phosphorylation and k-casein glycosylation. Lactose = glucose + galactose

al agrupamiento de las caseínas α_{s1}, α_{s2} y β bajo el epígrafe de "caseínas calcio-sensibles".

– En las caseínas calcio-sensibles existe una zona especialmente rica en residuos de serina fosforilada (Sp) que constituye el llamado Lugar Mayor de Fosforilación (*Major Phosphorylation Site*, MPS). Tiene una gran relevancia en el mantenimiento de la integridad de las micelas y es, junto con el péptido señal, la zona más conservada evolutivamente entre las caseínas calcio-sensibles: de hecho, se agrupan todas bajo la secuencia consenso E/Sp/N/Sp/Sp/Sp/E/E, siendo el tripéptido S/T-N-Ac (Ac = aminoácido ácido) la señal mínima de reconocimiento por parte de las caseín-quinasas (BRUNNER, 1981).

– La *k*-caseína carece de lugar mayor de fosforilación y es, como ya hemos visto, la menos fosforilada de las caseínas. Por este motivo permanece soluble en la leche y ejerce una función protectora sobre la superficie de la micela, impidiendo que ésta precipite. Esta proteína es específicamente hidrolizada por la quimosina o renina (E.C. 3.4.23.4) entre los aminoácidos M^{105}-F^{106} (JOLLÉS *et al.*, 1968): la pérdida

del extremo polar carboxilo terminal (llamado caseín-macropéptido) altera de tal forma la estabilidad estérica y electrostática de la superficie de la micela, que ésta precipita. Esta reacción tiene una gran importancia tecnológica, pues constituye la base de la coagulación de la leche en el proceso de elaboración del queso.

– Los genes de las caseínas tienen estructuras bien distintas, con unidades de transcripción que oscilan entre 8,5 y 18,5 Kb y un número de intrones de entre 4 y 18. Sin embargo, la hipótesis de un origen común de las caseínas calcio-sensibles (α_{s1}, α_{s2} y β) (GAYE *et al.*, 1977) está sustanciada por la presencia de motivos estructurales comunes en las regiones 5' proximales así como por el patrón estructural análogo de los cuatro primeros exones (JONES *et al.*, 1985). En particular, el exón II codifica la parte distal de la región 5' no traducida, el péptido señal íntegro y los dos primeros aminoácidos de la proteína madura. JONES *et al.* (1985) propusieron un ancestro común para las caseínas calcio-sensibles con un reducido número inicial de exones que habría crecido por duplicación intragénica y después, por duplicaciones intergénicas y selección divergente, habría dado lugar a los nuevos genes. Groenen *et al.* (1993) subrayan la validez de este modelo al proporcionar evidencias de una estrecha relación evolutiva entre las caseínas α_{s2} y β, tanto por similitudes de tamaño entre exones como por comparación de las secuencias correspondientes.

Fuentes de polimorfismo de las caseínas

Las caseínas dan lugar a un patrón electroforético enormemente heterogéneo, consecuencia de tres fenómenos que actúan a diferentes niveles:

1. *Polimorfismos genéticos*, pues las caseínas están codificadas por genes autosómicos con alelos –o variantes genéticas– codominantes. En ganado bovino, las cuatro caseínas son polimórficas, con un número de alelos que oscila entre cuatro (α_{s2} - GROSCLAUDE, 1988) y once (β -Ng-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992; MERCIER y GROSCLAUDE, 1993). Por el contrario, la caseína α_{s1} es la que exhibe un mayor número de alelos en los pequeños rumiantes (cinco en ovino -CHIANESE *et al.*, 1996-, doce en la especie caprina -GROSCLAUDE *et al.*, 1994-), mientras que tanto β como *k* de la especie ovina carecen de polimorfismo genético (Ng-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992; LÓPEZ-GÁLVEZ *et al.*, 1994).

2. *Modificaciones post-traduccionales*, consecuencia de diferentes grados de fosforilación de las caseínas α_{s1}, α_{s2} y β y de glicosilación de la *k*, en el interior del aparato de Golgi durante su transporte a través del citoplasma de la célula mamaria.

3. *Hidrólisis parcial de los extremos carboxilo y amino terminales* (BRUNNER, 1981) de la β-caseína por la plasmina de la leche, que da lugar a las llamadas "caseínas menores" (γ, TS, S y R) y a la fracción proteosa-peptona (componentes 5 a 8) (EIGEL *et al.*, 1984), respectivamente. Estas modificaciones tienen lugar en el interior de los *acini* mamarios y se prolongan en la leche fresca.

El Comité de Nomenclatura, Clasificación y Metodología de las Proteínas Lácteas propone, en su última revisión (EIGEL *et al.*, 1984), la identificación de las variantes genéticas de las caseínas bovinas en función del grado de homología con sus estructuras primarias, descritas entre los años 1970 y 1977, de tal manera que la aceptación de una nueva variante presupone poner en evidencia la existencia de alguna

diferencia aminoacídica con relación al alelo "salvaje" (Ng-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992), abandonándose el criterio electroforético anterior. Se han de designar por medio de letras mayúsculas correlativas, mientras que los polimorfismos no genéticos derivados de modificaciones post-traduccionales, se nombran con un número y una letra después de la letra que designa la variante genética correspondiente. Normas análogas se sugieren para la nomenclatura de las variantes de otras especies.

Los métodos de estudio del polimorfismo genético de las lactoproteínas se pueden dividir en dos grandes grupos: métodos de proteínas y métodos moleculares. Dentro de los primeros, se incluyen: técnicas de electroforesis clásicas, esto es, aquéllas cuyo criterio de separación son diferencias en la carga neta de la proteína (ASCHAFFENBURG y DREWRY, 1955); técnicas de Isoelectroenfoque (IEF), basadas en las diferencias de migración a través de un gradiente de pH (SEIBERT *et al.*, 1985); y las técnicas cromatográficas, muchas de las cuales han sido adaptadas durante las últimas tres décadas a este campo, con especial mención de la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC –JAUBERT y MARTIN, 1992–).

La técnica de Southern fue el primer procedimiento molecular aplicado al polimorfismo genético de las proteínas lácteas (LEVÉZIEL *et al.*, 1988). El descubrimiento, sin embargo, de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR -SAIKI *et al.*, 1985-) y posterior desarrollo de un gran número de técnicas de detección de mutaciones sobre producto amplificado, ha simplificado enormemente el diseño de protocolos moleculares específicos para el genotipado de variantes genéticas de las proteínas lácteas: entre ellos, PCR-RFLPs (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphisms –MEDRANO y AGUILAR-CÓRDOVA, 1990–), ACRS (Amplification Created Restriction Sites –LIEN *et al.*, 1992–), AS-PCR (Allele Specific PCR –DAVID y Deutch, 1992-) o, más recientemente, SSCP (Single Strand Conformation Polymorphisms –BARROSO *et al.*, 1997, 1998–).

Caseína α_{s1}

1. Características moleculares

Esta proteína tiene una longitud de 199 aminoácidos (aa) y un peso molecular de unos 23,6 kilodaltons –KDa– en bovino (GROSCLAUDE *et al.*, 1973), ovino (MERCIER *et al.*, 1985) y caprino (JANSÀ *et al.*, 1994). Presenta en bovino una homología del 87,4% y 87,9% con sus homólogos ovino y caprino, respectivamente, cifras que se elevan al 97% al comparar las secuencias de los pequeños rumiantes entre sí.

Se conoce la secuencia completa de los ARN mensajeros (ARN_m) de la caseína α_{s1} de ovino (MERCIER *et al.*, 1985), bovino (GORODETSKII *et al.*, 1986), caprino (JANSÀ *et al.*, 1994), conejo (DEVINOY *et al.*, 1988), cerdo (ALEXANDER y BEATTIE, 1992a) y del hombre (MARTIN *et al.*, 1996). La homología media entre los ARN mensajeros de las tres especies de rumiantes domésticos es del 95,7%, 5 puntos más que las homologías proteicas correspondientes. Esto se explica por el elevado grado de conservación evolutiva de los extremos 5' y 3' no traducidos, así como de los péptidos señal y lugares mayores de fosforilación.

La secuencia completa del gen de la α_{s1} se conoce en bovino (KOCZAN *et al.*, 1991) y conejo (JOLIVET *et al.*, 1992), así como la estructura del homólogo caprino (LEROUX *et al.*, 1992). Es bastante complejo (figura 2), está dividido en 19 exones en ambas especies y se extiende a lo largo de 17,5

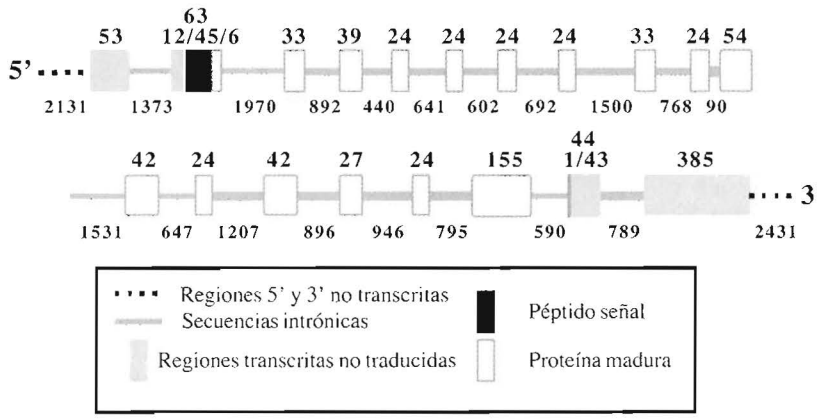


Figura 2. Organización estructural del gen de la caseína α_{s1} bovina (KOCZAN *et al.*, 1991). En todas las figuras, los números situados en la parte superior se refieren al tamaño de los exones en pares de bases; los de la parte inferior, a los intrones y los extremos 5' y 3' no codificantes

Figure 2. Structural organization of the bovine α_{s1}-casein gene. In all figures, upper numbers represent exon sizes in base pairs; lower numbers refer to introns, and 5' and 3' non-coding regions

kilobases –Kb– (17.508 pares de bases –pb– en bovino, 17.685 pb en el caso del conejo, unos 17.000 pb en la cabra). El ARNm representa tan sólo el 6,5% del total del gen, mientras que la región que se traduce se reduce al 3,5%.

En la caseína α_{s1}, el procesamiento (*splicing*) alternativo es una fuente muy importante de polimorfismo, especialmente en la especie caprina, en la que es responsable tanto de la gran heterogeneidad de transcritos de esta proteína (BRIGNON *et al.*, 1990; LEROUX *et al.*, 1992) como de los distintos niveles de síntesis proteica entre variantes genéticas (JANSÀ *et al.*, 1994). Otro tanto sucede con la variante A de la especie bovina, que se caracteriza por la deleción de los codones de los aminoácidos codificados por el exón IV, consecuencia de una mutación puntual en uno de los lugares de *splicing* (*splice sites*) (MOHR *et al.*, 1994). En la especie ovina se sugiere el mismo mecanismo para explicar la coexistencia de dos formas proteicas de diferente longitud (FERRANTI *et al.*, 1995). Este fenómeno también se ha puesto de relieve en otras especies domésticas, como la porcina (ALEXANDER y BEATTIE, 1992a).

2. *Polimorfismo genético y frecuencias de distribución de las variantes*

En la especie bovina se han descrito seis variantes genéticas: A, B, C (THOMPSON *et al.*, 1962), D (GROSCLAUDE *et al.*, 1966), E (GROSCLAUDE *et al.*, 1976a) y F (ERHARDT, 1993a), todas las cuales han sido caracterizadas a nivel aminoacídico (cuadro 1). La variante B es la predominante en *Bos taurus*, con las excepciones del ganado Jersey de la isla homónima (LARSEN *et al.*, 1974) y la raza Calabresa (BETTINI y MASSINA, 1972). Por contra, en *Bos indicus* y *Bos grunniens*, la variante mayoritaria es la C (BAKER y MANWELL, 1980). El alelo E parece ser específico del yak (GROSCLAUDE *et*

CUADRO 1
DIFERENCIAS AMINOACÍDICAS ENTRE LAS VARIANTES DE LA CASEÍNA α_{s1} BOVINA. EN TODAS LAS TABLAS, SE DETALLA LA COMPOSICIÓN NUCLEOTÍDICA DE LOS TRIPLETES IMPLICADOS, ASÍ COMO EL AMINOÁCIDO QUE VARÍA –ENTRE PARÉNTESIS– CON RELACIÓN A UNA VARIANTE-BASE (EN ESTE CUADRO, LA VARIANTE B)

TABLE 1

AMINO ACID DIFFERENCES AMONG BOVINE α_{s1}-CASEIN VARIANTS. IN ALL TABLES, NUCLEOTIDE COMPOSITION OF THE RELEVANT CODONS IS GIVEN, AS WELL AS THE AMINO ACID THAT DIFFERS -BETWEEN BRACKETS- WITH RESPECT TO A PRIMARY VARIANT (IN THIS TABLE, VARIANT B)

Variante	Posiciones aminoacídicas				
	14-26	53	66	59	192
A	Deleción				
B	–	GCC (A)	TCG (S)	CAA (Q)	GAA (E)
C					GGA (G)
D		ACC (T)			
E				AAA (K)	
F			TTG (L)		

al., 1976a). Las variantes A y D son mucho más raras: la primera está presente en el ganado Holstein, tanto el canadiense (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984) como el holandés (Larsen y Thymann, 1966); la variante D se ha descrito en varias razas de Francia (Grosclaude, 1988) e Italia (Russo y Mariani, 1978), así como en la Jersey holandesa (Corradini, 1969).

El polimorfismo de la caseína α_{s1} caprina es el más complejo de todas las lactoproteínas de los rumiantes, con un mínimo de doce alelos descritos (A, B, C –Boulanger *et al.*, 1984–, E/B', F, 0 –Grosclaude *et al.*, 1987–, D –Mahé y Grosclaude, 1989–, F', 0' –Leroux *et al.*, 1990–, X'B_1, Y/B_3 y G –Leroux *et al.*, 1992; Grosclaude *et al.*, 1994– y cuatro clases cuantitativas (alelos fuertes –A, B, C, cada uno de los cuales aporta 3,6 g/l de proteína–, intermedios –E, 1,6 g/l–, débiles –D, F, 0,6 g/l– y nulos) (Grosclaude *et al.*, 1987; Martin y Grosclaude, 1993). La estructura primaria de 9 alelos ha sido asimismo dilucidada (cuadro 2).

Los alelos E y F son los más frecuentes en las razas Alpina y Saanen (Grosclaude, 1991; Ramunno *et al.*, 1991). El alelo A se ha encontrado con frecuencias del 61% y del 33% en las razas italianas Garganica y Maltesa, respectivamente (Ramunno *et al.*, 1991). En las razas españolas, los alelos B y E son los más predominantes (Jordana *et al.*, 1991).

En la especie ovina se han descrito cinco alelos: *Welsh*/D (King, 1966; Mauriello *et al.*, 1990a), A, C (Ferranti *et al.*,

CUADRO 2
DIFERENCIAS AMINOACÍDICAS ENTRE LAS VARIANTES DE LA CASEÍNA α_{s1} CAPRINA DE COMPOSICIÓN CONOCIDA. LA NOMENCLATURA ADOPTADA ES LA QUE SUGIEREN GROSCLAUDE *et al.* (1994). LA INSERCIÓN DE 447 PB DEL ALELO E SE SITÚA DENTRO DE LA REGIÓN 3' NO TRADUCIDA (UTR) DEL EXÓN XIX (JANSÀ *et al.*, 1994)

TABLE 2
AMINO ACID DIFFERENCES AMONG CAPRINE α_{s1}-CASEIN VARIANTS OF KNOWN PRIMARY STRUCTURE. NOMENCLATURE OF VARIANTS USED IS ACCORDING TO GROSCLAUDE *et al. (1994). THE 447 BP INSERTION CHARACTERIZING THE E ALLELE IS PART OF THE 3' UNTRANSLATED REGION (UTR) WITHIN EXON XIX* (JANSÀ *et al.*, 1994)

Variante	Posiciones aminoacídicas								
	8	14-26	16	59-69	59-95	77	100	447 pb	195
A			CTC (L)			CAG (Q)			
B1 (X)			CTC (L)						
B2 (B)	CAC (H)	–	CCC (P)	–	–	GAG (E)	AGA (R)	–	ACT (T)
B3 (Y)							AAA (K)		GCT (A)
C	ATC (I)			Deleción			AAA (K)		GCT (A)
D									
E							AAA (K)	Inserción	GCT (A)
F					Deleción				
G		Deleción				CAG (Q)			

1995), B y E (CHIANESE *et al.*, 1996), de los que tres se han caracterizado bioquímicamente: A y D difieren de B en las sustituciones aminoacídicas puntuales P^{13}/S^{13} y S^{68}/N^{68}, respectivamente –FERRANTI *et al.*, 1995-. La variante *Welsh* se ha observado en casi todas las razas estudiadas (LÓPEZ-GÁLVEZ *et al.*, 1994), siempre a baja frecuencia excepto en la raza Sarda (citado en RAMUNNO *et al.*, 1997) y una población local de la región italiana de Campania (CHIANESE *et al.*, 1996). En las razas españolas, no se ha detectado su presencia en las razas Manchega y Segureña (LÓPEZ-GÁLVEZ, 1993), lo que resulta especialmente interesante teniendo en cuenta sus efectos negativos sobre la producción de queso (PIREDDA *et al.*, 1993). Recientemente, se ha puesto a punto un test molecular de PCR-alelo específica para la detección de los animales portadores de dicha variante (RAMUNNO *et al.*, 1997).

Caseína α_{s2}

1. Características moleculares

En la especie bovina, esta proteína tiene una longitud de 207 aa y un peso molecular de 25,2 KDa (BRIGNON *et al.*, 1977). La secuenciación del ADN codificante (ADNc) (STEWART *et al.*, 1987) ha dado lugar a la sustitución del aa E por Q en la posición 87

con respecto a la estructura primaria publicada originalmente. En caprino y ovino, la inserción puntual de N entre I^{14} e I^{15} (GROSCLAUDE, 1991) confiere a la proteína una longitud de 208 aa (BOULANGER *et al.*, 1984; BOISNARD y PETRISSANT, 1985). Las homologías bovino-ovino, bovino-caprino y ovino-caprino son, respectivamente, 88%, 87% y 97,7%. Se trata de la caseína más fosforilada, con 10 a 13 grupos fosfato adheridos a su estructura, que le confieren un patrón electroforético muy complejo, con cinco bandas mayoritarias (α_{s2}, α_{s3}, α_{s4}, α_{s5} y α_{s6}), conocidas clásicamente como "caseínas menores", que no son sino modificaciones post-traduccionales de la misma proteína (BRIGNON *et al.*, 1977). Por el mismo motivo se trata de la caseína más sensible a las condiciones de fuerza iónica y concentración ambiental de cationes, especialmente de calcio.

Se conoce la secuencia completa del ARNm de la caseína α_{s2} de cobaya (HALL *et al.*, 1984), ovino (BOISNARD y PETRISSANT, 1985), bovino (STEWART *et al.*, 1987), conejo (DAWSON *et al.*, 1993) y caprino (BOUNIOL *et al.*, 1994).

La secuencia completa del gen de la α_{s2} (figura 3) se conoce tan sólo en la especie bovina (GROENEN *et al.*, 1993). Se extiende a lo largo de 18,5 Kb de ADN y está dividida en 18 exones, que presentan unos tamaños máximo y mínimo de 266 (exón XVIII) y 21 pb (exón IV), respectivamente. La secuencia codificante se extiende entre los exones II y XVII. El ARNm y la secuencia codificante representan tan sólo el 5,5% y el 3,6% sobre la extensión total del gen. A pesar de que la organización global del gen parece ser más similar a la del gen de la caseína α_{s1} (KOCZAN *et al.*, 1991), tanto la comparación entre secuencias como la lon-

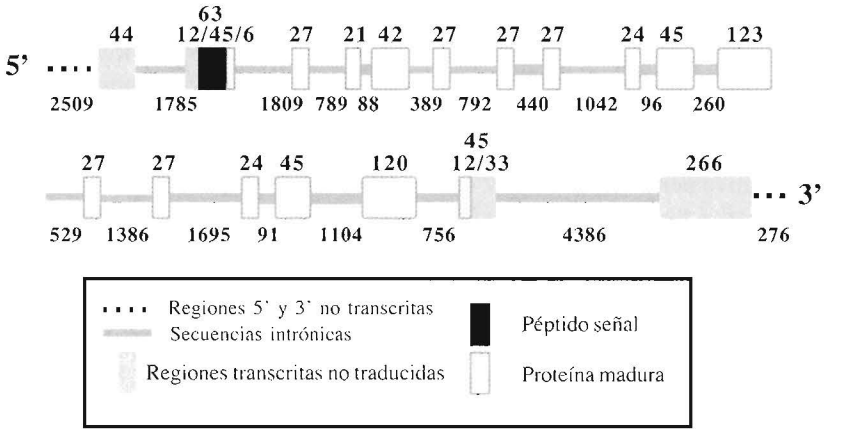


Figura 3. Organización estructural del gen de la caseína α_{s2} bovina (GROENEN *et al.*, 1993)
Figure 3. Structural organization of the bovine α_{s2}-casein gene

gitud de los exones lo acercan más al gen de la β-caseína (BONSING *et al.*, 1988).

2. Polimorfismo genético y frecuencias de distribución de las variantes

En ganado bovino, esta caseína es la menos polimórfica, con cuatro alelos descritos: A, B, C (GROSCLAUDE *et al.*, 1976b) y D (GROSCLAUDE *et al.*, 1978), tres de los cuales están caracterizados bioquímicamente (cuadro 3). El ganado bovino europeo es prácticamente monomórfico para el alelo A, pues tan sólo se ha descrito la variante D en las razas francesas Vosgienne y Montbéliarde (GROSCLAUDE *et al.*, 1978), en la italiana Podolica (CHIANESE *et al.*, 1988) y en cinco razas autóctonas germanas (ERHARDT, 1993b). B y C sólo se han descrito en *Bos grunniens* (GROSCLAUDE *et al.*, 1976b; GROSCLAUDE *et al.*, 1982).

En *caprino,* se admite la existencia de tres variantes genéticas: A, B (BOULANGER *et al.*, 1984) y C (citada en BOUNIOL *et al.*, 1994). Se conocen asimismo las diferencias aminoacídicas que caracterizan a cada una de ellas (BOUNIOL *et al.*, 1993; BOUNIOL *et al.*, 1994) (cuadro 3). A y B están ampliamente distribuidas (RUSSO *et al.*, 1986).

En las *ovejas* se conocen tres variantes genéticas: A, B (BOISNARD *et al.*, 1991) y SR o variante "superrápida", descrita por vez primera en leche de raza Manchega (CHIANESE *et al.*, 1993) (cuadro 3).

β-caseína

1. Características moleculares

En la especie bovina, la β-caseína es una proteína de 209 aa (RIBADEAU-DUMAS *et al.*, 1972), con 4 ó 5 grupos fosfato adheridos a su estructura (EIGEL *et al.*, 1984). Basándose en el conocimiento de su estructura, GORDON *et al.* (1972) demostraron que las proteínas antes llamadas caseínas γ_1, γ_2 y γ_3 son en realidad fragmentos de β-caseína resultantes de la acción proteolítica de la plasmina natural de la leche sobre su extremo carboxilo terminal. La actividad catalítica de esta enzima también se ejerce sobre el extremo amino terminal de esta proteína (WHITNEY *et al.*, 1976), dando lugar a otros péptidos que se conocen clásicamente como la "fracción proteosa-peptona". A la luz de estos hechos, se ha propuesto una nueva nomenclatura para la familia de esta proteína (EIGEL *et al.*, 1984).

En la especie caprina, la secuencia de la β-caseína es 2 aa menor que la de su homóloga bovina, y se ha deducido directamente a partir del ADNc correspondiente (n.° EMBL M90562, Swissprot P33048). Su homología con las de bovino –89,9%– y ovino –99,5%– es superior a la de las caseínas α_{s1} y α_{s2}. Tiene un patrón electroforético relativamente sencillo, con tres bandas, dos intensas y una algo más clara (MAHÉ y GROSCLAUDE, 1993).

En las ovejas, la β-caseína mide, al igual que en las cabras, 207 aa (n.° EMBL X16482, Swissprot P11839), por deleción del dipéptido P^{179}-Y^{180} (GROSCLAUDE, 1991). Su perfil electroforético consiste en dos bandas de intensidad similar y migración más lenta que las otras tres caseínas (LÓPEZ-GÁLVEZ *et al.*, 1994).

La secuencia completa del ARNm de la β-caseína se conoce en rata (BLACKBURN *et al.*, 1982), ratón (YOSHIMURA *et al.*, 1986), bovino (STEWART *et al.*, 1987), ovino (PROVOT *et al.*, 1989), cerdo (ALEXANDER y BEATTIE, 1992b), caprino (no publicado, n.° EMBL M90556-M90562), conejo (no publicado, n.° EMBL X13043) y hombre (no publicado, n.° EMBL X17070).

CUADRO 3
DIFERENCIAS AMINOACÍDICAS ENTRE LAS VARIANTES DE LA CASEÍNA α_{s2} BOVINAS, CAPRINAS Y OVINAS DE COMPOSICIÓN CONOCIDA. EN SOMBREADO SE REPRESENTA LA VARIANTE B BOVINA, DE COMPOSICIÓN QUÍMICA DESCONOCIDA

TABLE 3
AMINO ACID DIFFERENCES AMONG BOVINE, CAPRINE AND OVINE α_{s2}-CASEIN VARIANTS OF KNOWN PRIMARY STRUCTURE. CHEMICAL COMPOSITION OF THE BOVINE B ALLELE (SHADED) HAS NOT BEEN ELUCIDATED YET

Variante	Posiciones aminoacídicas							
	Bovino				Caprino		Ovino	
	33	47	51-59	130	64	167	49	200
A	GAG (E)	GCA (A)	–	ACC (T)	GAA (E)	AAA (K)	AAT (N)	AAA/G (K)
B					AAA (K)		**G**AT (D)	AA**C** (N)
C	**GG**G (G)	**A**CA (T)		**AT**C (I)		ATA (I)		
D			Deleción					

El gen de la β-caseína ha sido secuenciado de manera completa en las especies bovina (BONSING *et al.*, 1988), en conejo (THEPOT *et al.*, 1991), humana (HANSSON *et al.*, 1994), ovina (PROVOT *et al.*, 1995) y en ratón (no publicado, n.° EMBL X13484). En la especie caprina está clonado y expresado en animales transgénicos (ROBERTS *et al.*, 1992), pero su secuencia aún no está disponible. Se extiende a lo largo de una región de 10 a 13 Kb. Su organización intrón-exón es la más sencilla de las caseínas calcio-sensibles, pues en el caso de bovino y ovino el número de exones se reduce a 9 (figura 4), con unos tamaños mínimo y máximo de 24 y 498 pb en bovino y 24 y 492 en ovino para los exones VII y V en ambas especies, respectivamente.

2. *Polimorfismo genético y frecuencias de distribución de las variantes*

En *bovino,* la β-caseína es, después de la β-lactoglobulina, la proteína láctea en la que más alelos se han descrito, con un mínimo de 11 (Ng-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992; MERCIER y GROSCLAUDE, 1993): A^1, A^2, A^3, B, C, D, E, A', B^2, $A^{3Mongolie}$ y A^4. ASCHAFFENBURG (1961) describió las variantes A, B y C por medio de electroforesis sobre papel de filtro trabajando con muestras de razas Jersey y Guernsey en condiciones alcalinas. Posteriormente, la variante A se resolvió en tres bandas distintas en geles de poliacrilamida a pH ácido, que fueron llamadas A^1, A^2 y A^3. ASCHAFFENBURG *et al.* (1968) descubrió una nueva variante, a la que llamó D, en las razas Deshis de la India y Boran de Kenia. La variante E se describió por vez primera en la raza Piamontesa italiana (VOGLINO, 1972). De todas ellas se conoce la estructura primaria y diferencias aminoacídicas correspondientes (RIBADEAU-DUMAS *et al.*, 1972; EIGEL *et al.*, 1984) (cuadro 4).

El resto de las variantes descritas son de distribución mucho más local: así, A' se ha identificado sólo en la raza Japanese Brown

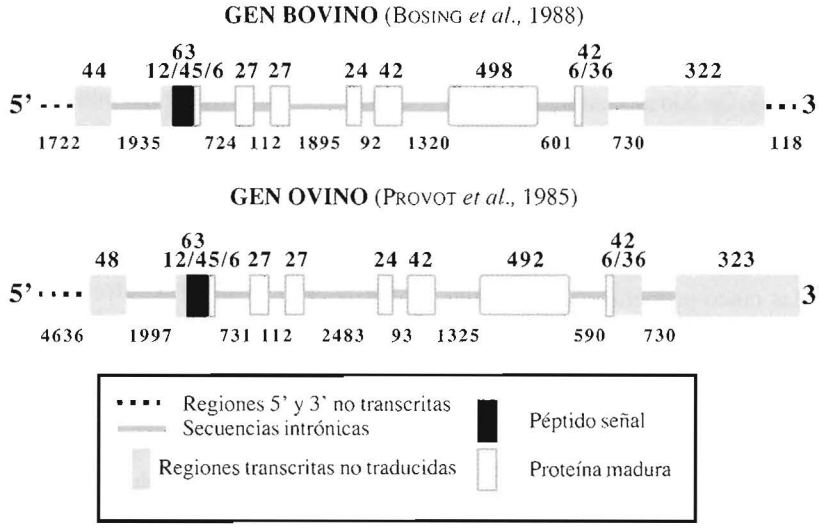


Figura 4. Organización estructural del gen de la β-caseína de las especies bovina y ovina
Figure 4. Structural organization of the β-casein gene in bovine and ovine species

CUADRO 4
DIFERENCIAS AMINOACÍDICAS ENTRE LAS VARIANTES DE β-CASEÍNA BOVINA DE COMPOSICIÓN CONOCIDA
TABLE 4
AMINO ACID DIFFERENCES AMONG BOVINE β-CASEIN VARIANTS OF KNOWN PRIMARY STRUCTURE

Variante	Posiciones aminoacídicas					
	18	36	37	67	106	122
A[1]				CAT (H)		
A[2]	AGC (S)	GAA/G (E)	GAA (E)	CCT (P)	CAC (S)	AGC (S)
A[3]					CA**A** (Q)	
B				C**AT** (H)		AG**G** (R)
C			**A**AA (K)	C**AT** (H)		
D	AAA/**G** (K)					
E		**A**AA (K)				

(ABE *et al.*, 1975), B^2 (CREAMER y RICHARDSON, 1975) en dos vacas neozelandesas de raza no identificada, $A^{3Mongolie}$ (GROSCLAUDE *et al.*, 1982) en ganado autóctono mongol; y A^4, en ganado de Bali (BELL *et al.*, 1981a) y posteriormente también en ganado coreano (HAN *et al.*, 1983).

Tan sólo hay datos de distribución fiables para las cinco primeras variantes. Las más abundantes son A^1 y A^2, que están presentes en todas las poblaciones analizadas de *Bos taurus* y *Bos indicus*, mientras que en yak (*Bos grunniens*) no se ha encontrado A^1 (GROSCLAUDE *et al.*, 1982). A^3, en las razas en las que se ha descrito, suele estar presente en menos del 4% de las muestras. B está descrita, al igual que A^1 y A^2, en la mayor parte del ganado bovino y cebuino, si bien su frecuencia no suele exceder del 10%. C, finalmente, es exclusiva de las razas centro y sudorientales de las poblaciones europeas de *Bos taurus*, con una frecuencia casi siempre inferior al 5% (NG-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992).

En la β-caseína *caprina* se reconoce la existencia de un mínimo de cuatro alelos: A, B, 0 y 0'. MAHÉ y GROSCLAUDE (1993), trabajando con muestras de raza Créole de Guadalupe, describieron el alelo B con una frecuencia del 3% y constataron, refrendando los resultados preliminares de DALL'OLLIO *et al.* (1989), la existencia de muestras de leche sin β-caseína detectable electroforéticamente. Los análisis de segregación les llevaron a concluir que había un mínimo de dos alelos nulos (0, 0') segregando en la población, que RANDO *et al.* (1996) han confirmado a nivel molecular. Recientemente, se ha puesto de manifiesto la existencia de alelos nulos de esta proteína en la raza española Granadina (RECIO *et al.*, 1997).

Esta proteína es monomórfica en *ovino* (NG-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992; LÓPEZ-GÁLVEZ *et al.*, 1994). El perfil electroforético más frecuente, tanto a pH alcalino (DI STASIO, 1983) como a pH ácido (DAVOLI *et al.*, 1985), está constuido por dos bandas de intensidad similar (β_1 y β_2) que difieren en el grado de fosforilación (RICHARDSON y CREAMER, 1976). Sin embargo, se han descrito otros tres tipos de patrones electroforéticos trabajando en condiciones alcalinas: uno de ellos con una sola banda y los otros dos con tres. En estos últimos, además de las dos bandas anteriormente mencionadas, se aprecia una tercera de migración más rápida (KING, 1966) o más lenta (ARAVE *et al.*, 1973).

k -caseína

1. Características moleculares

En ganado bovino, la *k*-caseína tiene una longitud total de 169 aa y un peso molecular de 19 KDa (MERCIER *et al.*, 1973). La comparación de la *k*-caseína con las tres caseínas calcio-sensibles arroja unas notables diferencias: en efecto, carece de MPS, que le permite mantenerse en solución a la concentración normal (30 mM) de calcio en la leche; es una fosfoglucoproteína pues, además de un grupo fosfato adherido a su estructura (EIGEL *et al.*, 1984), alrededor del 20% de la proteína total está también glicosilada, por unión de un tri- o un tetrasacárido; finalmente, el dipéptido F^{105}-M^{106} (DELFOUR *et al.*, 1965) es sensible a la hidrólisis por la quimosina o renina, hecho de importancia fundamental, tanto desde un punto de vista fisiológico –formación de un coágulo en el estómago del lactante– como tecnológico –primera fase de la elaboración del queso–.

En los pequeños rumiantes, esta proteína mide 2 aminoácidos más que su homóloga bovina, por inserción del dipéptido V-H entre T^{131}-S^{132} (GROSCLAUDE, 1991). Las secuencias de ovino (JOLLÉS *et al.*, 1974) y caprino (deducida a partir de su ADNc –COLL *et al.*, 1993–) son homólogas en un 95%. Las homologías de la secuencia de bovino con las de ovino y caprino son bastante inferiores a las que presentan las caseínas calcio-sensibles entre sí, situándose en torno al 85%.

El ARNm de la *k*-caseína ha sido secuenciado completamente en rata (NAKASHI *et al.*, 1984), ratón (THOMPSON *et al.*, 1985), vaca (GORODETSKII y KALEDIN, 1987), oveja (FURET *et al.*, 1990), cerdo (LEVINE *et al.*, 1992), hombre (BERGSTROM *et al.*, 1992), conejo (BOSZE *et al.*, 1993) y cabra (COLL *et al.*, 1993).

En lo que concierne a secuencias génicas, no se conoce ninguna en su totalidad. En la especie bovina (figura 5), se ha publicado la organización genérica intrón-exón (ALEXANDER *et al.*, 1988) y secuenciado unas 9 Kb de un total de 13; faltan, por lo tanto, unos 4.000 pb que corresponden exclusivamente a regiones intrónicas (ALEXANDER *et al.*, 1988). En vacuno, la región codificante está dividida en 5 exones, con unos tamaños mínimo y máximo que oscilan entre 33 (III) y 517 pb (IV). De forma análoga a la β-caseína, existe un exón (el IV en este caso) que codifica gran parte de la proteína madura: concretamente, abarca el 60% de la región codificante y el 95% de la proteína madura, que de nuevo facilita notablemente los procedimientos moleculares actuales de búsqueda de polimorfismo y genotipado.

2. Polimorfismo genético y frecuencias de distribución de las variantes

Hay un total de seis variantes genéticas descritas en la *especie bovina:* A, B, C/D, E, F y G (KAMINSKI, 1996). Tres investigadores (NEELIN, 1964; SCHMIDT, 1964; WOYCHIK, 1964), trabajando de forma independiente, detectaron un polimorfismo bialéli-

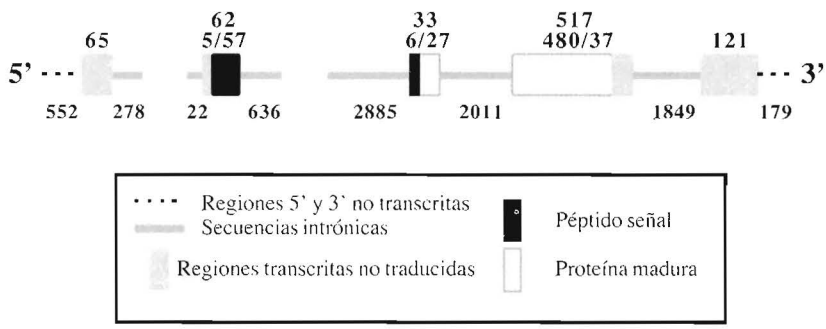


Figura 5. Organización estructural del gen de la *k*-caseína bovina (ALEXANDER *et al.*, 1988). Los intrones I y II no están secuenciados en su totalidad

Figure 5. Structural organization of the bovine k-casein gene. Introns I and II are not completely sequenced

co por electroforesis en almidón con 2-mercaptoetanol en condiciones alcalinas, y que llamaron A y B. Un año más tarde, se demostró que ambos patrones representaban de hecho dos variantes genéticas (GROSCLAUDE *et al.*, 1965). DI STASIO y MERLIN (1979) describieron la variante C, cuyo determinismo genético fue posteriormente confirmado (CAROLI *et al.*, 1989), que migra en condiciones alcalinas por delante de la variante A. En 1987, Seibert *et al.*, trabajando con ganado autóctono germano, describieron la variante D con la técnica de Isoelectroenfoque en Geles UltraFinos (Ultra Thin Layer-IsoElectric Focusing, UTL-IEF) (SEIBERT *et al.*, 1985), pero la secuenciación aminoacídica posterior demostró que era idéntica a la variante C (MIRANDA *et al.*, 1993). Recientemente, se han publicado otras dos nuevas variantes: F (IKONEN *et al.*, 1996) y G (ERHARDT, 1996), en ganado Ayrshire finés y Pinzgauer, respectivamente. Existe asimismo un microsatélite en el intrón III de este gen (LIEN y ROGNE, 1993), del que se han detectado seis alelos (LEVÉZIEL *et al.*, 1994).

Las variantes A, B, C y E están caracterizadas a nivel aminoacídico (GROSCLAUDE *et al.*, 1972; MIRANDA *et al.*, 1993) (cuadro 5). Curiosamente, A y B en *Bos taurus* difieren entre sí en dos posiciones aminoacídicas (136 y 148), mientras que las homólogas de *Bos indicus* presentan una tercera sustitución en la posición 135 (GROSCLAUDE *et al.*, 1974). En cuanto a las variantes F y G, PRINZENBERG *et al.* (1996) han identificado, por secuenciación del producto PCR correspondiente, una mutación puntual en cada una que da lugar a una sustitución aminoacídica puntual (cuadro 5) con respecto a la variante A, pero estos resultados aún han de ser confirmados a nivel aminoacídico (PRINZENBERG *et al.*, 1996).

Las variantes A y B han sido encontradas en todas las poblaciones del género *Bos* investigadas, incluidos los yaks (GROSCLAUDE *et al.*, 1976a), en las que presentan frecuencias bastante similares excepto en las razas originarias de la Europa septentrional (Ayrshire, Holstein-Friesian, Flamande, Danish Red, etc.), donde la variante A predomina claramente. El caso contrario lo representan la raza Jersey y su vecina continental, la Normanda, en las que el alelo B puede alcanzar frecuencias de hasta el 70%. Asimismo, se constata un claro desequilibrio entre A y B en función de la especialización productiva del vacuno lechero: en efecto, las poblaciones altamente seleccionadas para cantidad de leche (Holstein-Friesian) tienen alelo A en frecuencias superiores a las consideradas normales para la raza; lo contrario ocurre con las poblaciones de ganado vacuno mantequero altamente seleccionado (Ng-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992).

Las variantes C y E son muy poco frecuentes en las poblaciones en las que han sido descritas (JAKOB, 1991; ERHARDT, 1989a), con alguna excepción: así, se han publicado porcentajes del 13% de C y 30% de E en las razas Menorquina (ZARAZAGA *et al.*, 1996) y Ayrshire finesa (IKONEN *et al.*, 1996), respectivamente.

La mayoría de los autores consideran monomórfica esta proteína en el *ganado caprino* (Ng-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992), con un patrón electroforético constituido por dos bandas de intensidad similar (RUSSO *et al.*, 1986). Sin embargo, DI LUCCIA *et al.* (1990) han demostrado la existencia de dos variantes que, por analogía con la nomenclatura bovina, llaman A y B. Estos mismos autores sugieren que ambas se diferencian por una sustitución aminoacídica puntual en el extremo amino terminal o *para-k*-caseína. Un trabajo reciente

CUADRO 5
DIFERENCIAS AMINOACÍDICAS ENTRE LAS VARIANTES DE LA k-CASEÍNA BOVINA
TABLE 5
AMINO ACID DIFFERENCES AMONG BOVINE k-CASEIN VARIANTS

Variante	Posiciones aminoacídicas				
	10	97	136	148	155
A	CGC (R)	CGT (R)	ACC (T)	GAT (C)	AGC (S)
B			ACT (I)	GCT (A)	
C		CAT (H)	ACT (I)	GCT (A)	
E					GGC (G)
F	CAC (H)				
G		TGT (C)			

confirma tal polimorfismo por cromatografía de intercambio iónico y electroforesis capilar (RECIO *et al.*, 1997).

La *k*-caseína se considera asimismo monomórfica en *ovino*. ALAIS y JOLLÉS (1961) describieron dos variantes genéticas, que llamaron A y B, pero la secuenciación posterior de las cinco bandas a las que esta proteína da origen en condiciones electroforéticas alcalinas reveló idéntica composición aminoacídica, con diferencias tan sólo en el grado de glicosilación (ALLAIS y JOLLÉS, 1967). El posible polimorfismo genético vuelve a ser sugerido en estudios realizados por isoelectroenfoque (ADDEO *et al.*, 1992), pero no existe todavía confirmación inequívoca del mismo.

α-lactoalbúmina

1. Características moleculares

Se trata de una metaloproteína cálcica (HIROAKA *et al.*, 1980) de estructura globular, muy conservada entre las tres especies de rumiantes domésticos, como lo demuestran la elevada homología proteica (superior al 95%), así como la longitud (123 aminoácidos –BREW *et al.*, 1970; MCGILLIVRAY *et al.*, 1979; MERCIER *et al.*, 1978–) y peso molecular (14,2 KDa) comunes, que ya fue cristalizada en el siglo pasado y objeto de numerosos estudios en los albores de la química de las proteínas (revisado por GORDON, 1971). Además del mero aporte de aminoácidos para el neonato, esta proteína tiene una función biológica bien precisa: actuar como componente regulador de la síntesis de la lactosa.

Se conoce la secuencia completa del ARNm del hombre y cobaya (HALL *et al.*, 1982), oveja (GAYE *et al.*, 1987), cabra (KUMAGAI *et al.*, 1987), vaca (WANG *et al.*, 1989), cerdo (DAS GUPTA *et al.*, 1992) y ratón (VILOTTE *et al.*, 1992). La comparación interespecífica ofrece homologías superiores al 96%. Sin embargo, al contrario de lo que ocurre con los ADNcs de las caseínas, están más conservados los extremos 5' y 3' no traducidos, mientras que los grados de divergencia de péptidos señal y proteínas maduras son similares.

La secuencia nucleotídica completa del gen de la α-lactoalbúmina se conoce en

rata (QASBA y SAFAYA, 1984), bovino (VILOTTE *et al.*, 1987 -figura 6-), humano (HALL *et al.*, 1987), cobaya (LAIRD *et al.*, 1988), caprino (VILOTTE *et al.*, 1991 –figura 6–) y ratón (VILOTTE y SOULIER, 1992). Dicho gen se encuentra físicamente situado en el cromosoma 5 de bovino y en el 3 de ovino (ECHARD *et al.*, 1994). Es el gen de menor tamaño de todas las lactoproteínas, con una unidad de transcripción de aproximadamente 2 kilobases dividida en cuatro exones, organización similar a la de la lisozima, lo que corrobora la hipótesis de un origen ancestral común. Los dominios funcionales de esta proteína están codificados por un exón (exón I para el péptido señal, exón III para el lugar de unión al calcio) o por dos (el dominio de interacción con la UDP-galactosiltransferasa está codificado por los exones II y IV). Se ha detectado la existencia de pseudogenes de esta proteína, es decir, genes afuncionales por mutaciones en la región promotora (MEPHAM *et al.*, 1992), en bovino y ovino (SOULIER *et al.*, 1989) y en caprino (VILOTTE *et al.*, 1991); en el caso concreto de la secuencia del pseudogén bovino, presenta una homología superior al 60% con su homónimo funcional a lo largo de toda la unidad de transcripción.

2. *Polimorfismo genético y frecuencias de distribución de las variantes*

Se han descrito tres variantes genéticas de la α-lactoalbúmina bovina: A, B –que difieren entre sí por la sustitución Q^{10}/R^{10}– y C. BLUMBERG y TOMBS (1958) detectaron las variantes A y B en cebú White Fulani nigeriano por medio de electroforesis en papel, polimorfismo ya intuido por ASCHAFFENBURG y DREWRY (1957). Una tercera variante de α-lactoalbúmina, de migración algo más lenta que la variante B, ha sido descrita en *Bos javanicus* (BELL *et al.*,

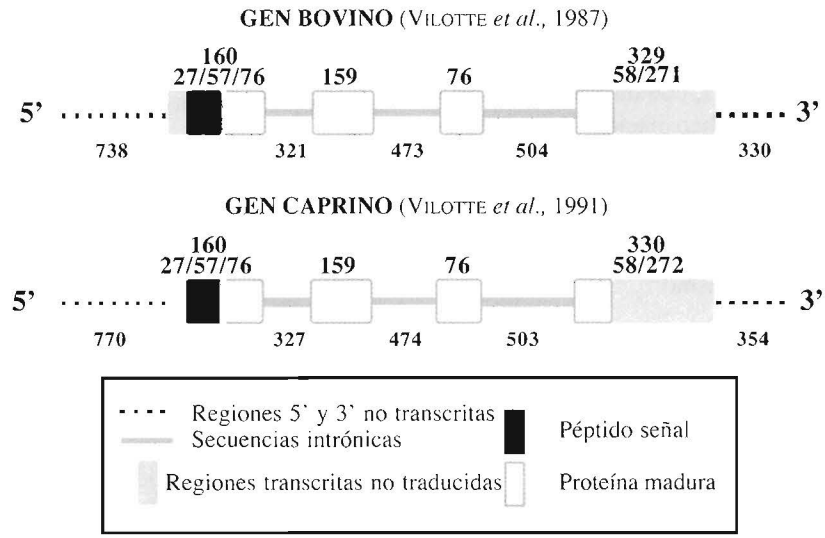


Figura 6. Organización estructural del gen de la α-lactoalbúmina en las especies bovina y caprina
Figure 6. Structural organization of the α-lactalbumin gene in bovine and caprine species

1981a) y bautizada provisionalmente como C, hasta que se confirmen las pertinentes diferencias en la secuencia aminoacídica.

En las *razas bovinas* del norte de Europa, esta proteína es monomórfica para la variante B, mientras que la variante A está de forma minoritaria presente en bastantes razas meridionales de origen podólico (CHIANESE *et al.*, 1988), así como en todas las poblaciones de *Bos indicus* hasta ahora analizadas (Ng-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992).

En la *especie caprina,* tan sólo existe una referencia a la existencia de dos variantes genéticas, A y B (MAES *et al.*, 1976). Sin embargo, el polimorfismo genético de las lactoproteínas de esta especie está siendo objeto de estudio por isoelectroenfoque en geles ultrafinos (Erhardt, comunicación personal).

En la *oveja,* el polimorfismo de esta proteína es bialélico, si bien la variante B ha sido descrita tan sólo en cinco grupos étnicos y siempre en estado heterocigoto: Latvian Darkheaded (STAMBEKOV *et al.*, 1974), Comisana, Barbaresca-Siciliana y Siciliana-Pinzirita (CHIOFALO y MICARI, 1987) y German Black-Faced (ERHARDT, 1989b). El estudio del polimorfismo genético de la α-lactoalbúmina sigue en curso, tanto por técnicas de electroforesis bidimensional (LÓPEZ-GÁLVEZ *et al.*, 1995) como por UTL-IEF (Erhardt, comunicación personal).

β-lactoglobulina

1. Características moleculares

Esta proteína tiene una longitud de 162 aminoácidos en bovino (BRAUNITZER *et al.*, 1972), caprino (PRÉAUX *et al.*, 1979) y ovino (KOLDE y BRAUNITZER, 1983), con un elevadísimo grado de conservación aminoacídica entre ellas, superior al 97%. Al pH normal de la leche (6,5), la β-lactoglobulina de los rumiantes se presenta en forma dimérica, con un peso molecular de 18 KDa por monómero, mientras que en los monogástricos en los que está presente aparece en forma monomérica.

Desde su aislamiento por Palmer en 1934, ha sido estudiada exhaustivamente por prácticamente todas las técnicas disponibles. A pesar de ello, su función biológica sigue siendo un misterio: los más recientes estudios cristalográficos por rayos X muestran una estructura similar, por una parte, a la de proteínas de secreción como la Proteína de Unión al Retinol (RBP), la Proteína Urinaria de Ratón (MUP) y la Proteína 14 de la Placenta (PP14) (MERCIER *et al.*, 1990); y por otra, a la familia de las lipocalicinas, como la apolipoproteína D (PÉREZ y CALVO, 1995). Todas ellas participan en el transporte de pequeños ligandos hidrofóbicos, de forma que, por analogía, la hipótesis más en boga la implica en la vehiculación de retinol y ácidos grasos en la leche.

Se conoce la estructura nucleotídica completa de los ADNc de bovino (ALEXANDER *et al.*, 1989), ovino (GAYE *et al.*, 1986), caprino (FOLCH *et al.*, 1993), caballo (n.° EMBL U60356, no publicado) y cerdo (ALEXANDER y BEATTIE, 1992a). El transcrito maduro y la preproteína representan el 10% y el 6,4% de la unidad de transcripción, respectivamente, valores que se acercan más a los de las caseínas que a los comentados para la otra seroproteína mayoritaria.

Se dispone de las secuencias génicas completas de la β-lactoglobulina de las tres especies de rumiantes domésticos (figura

7): ovino (ALI y CLARK, 1988; HARRIS *et al.*, 1988), bovino (n.° EMBL de acceso: Z48305 -9.432 pb-, X14710 -7.877 pb-, no publicado) y caprino (FOLCH *et al.*, 1994). En todos los casos, la unidad de transcripción, de unas 4,7 Kb, está dividida en 7 exones, con unos tamaños comprendidos entre 42 (exón VI) y 180 (exón VII) pb (figura 7), estructura que recuerda a la de las proteínas MUP y RBP. Este gen está situado en el cromosoma 11 en bovino y caprino, mientras que en la especie ovina ha sido mapeado en el cromosoma 3 (HAYES y PETIT, 1993).

Otro rasgo en común con la otra seroproteína mayoritaria es la existencia de pseudogenes, cuya existencia ha sido puesta de manifiesto tanto en la especie bovina (PASSEY y MACKINLAY, 1995) como en la cabra (FOLCH *et al.*, resultados sin publicar, n.° EMBL de acceso Z47079), con un grado de homología con sus respectivos homónimos funcionales de 60% en el bovino y 45% en la especie caprina.

2. *Polimorfismo genético y frecuencias de distribución de las variantes*

La β-lactoglobulina es la proteína más polimórfica del ganado vacuno, pues para ella se han descrito un mínimo de 12 variantes genéticas (Erhardt, comunicación personal): A, B, C, D, Dr, D_{yak}/E, F, G, H, I, W y X. ASCHAFFENBURG y DREWRY (1955) describieron la existencia de un polimorfismo bialélico en esta proteína, con dos bandas que llamaron β_1 y β_2 en orden decreciente de movilidad en electroforesis en papel a pH alcalino. Esta nomenclatura fue más tarde reemplazada por A y B, respectivamente, cuando se puso en evidencia que dicho polimorfismo estaba controlado por dos alelos autosómicos del mismo gen (ASCHAFFENBURG y DREWRY, 1957), en lo que constituye la primera referencia de polimorfismo genético en las proteínas lácteas. Las variantes C (BELL, 1962) y D (GROSCLAUDE *et al.*, 1966) se describieron en las razas europeas Jersey y Montbéliarde, respectivamente. D_{yak}/E (GROSCLAUDE *et al.*, 1976b) y F y G (BELL *et al.*, 1981b) fueron halladas en poblaciones de yak (*Bos grunniens*) y ganado autóctono de Bali (*Bos javanicus*), respectivamente. Las variantes H (DAVOLI *et al.*, 1988), I (ERHARDT *et al.*, 1998), W (KRAUSE *et al.*, 1988) y X (BARANYI *et al.*, 1993) se han descrito en las razas Frisona, Red Polish, Murnau-Werdenfelser y Hungarian Grey, respectivamente. Con la excepción de las variantes H y X, todas las demás están caracterizadas a nivel aminoacídico (cuadro 6).

Con relación a su frecuencia de distribución, las variantes A y B parecen estar universalmente repartidas en *Bos indicus* y *Bos taurus*, siendo B la mayoritaria en todas las poblaciones cebuinas y el 75% de las taurinas (Ng-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992). Para todas las demás, la información es muy fragmentada y confusa, entre otras cosas por la dificultad de diferenciación entre algunas de ellas por la mayor parte de las técnicas electroforéticas –caso de C y D– o la existencia de variantes aparentemente endémicas de determinadas poblaciones, como ya se ha comentado para la D_{yak}/E , la F y la G.

La β-lactoglobulina *caprina* es igualmente polimórfica, con dos alelos: A y B (MACHA, 1970, citado en MARTIN, 1993).

En la *especie ovina*, el polimorfismo genético de la β-lactoglobulina es, junto con el de la caseína α_{s1}, el mejor documentado, con tres variantes: A, B (BELL y MCKENZIE, 1964) y C (ERHARDT, 1989c). Las dos pri-

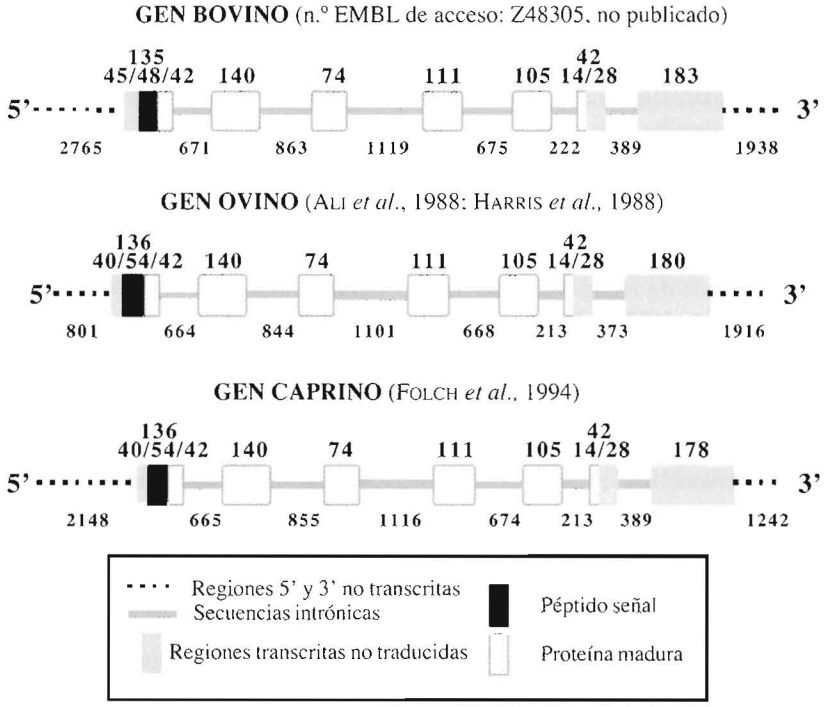


Figura 7. Organización estructural del gen de la β-lactoglobulina en los rumiantes domésticos
Figure 7. Structural organization of the β-lactoglobulin gene in domestic ruminants

CUADRO 6
DIFERENCIAS AMINOACÍDICAS ENTRE LAS VARIANTES DE β-LACTOGLOBULINA BOVINA DE COMPOSICIÓN CONOCIDA
TABLE 6
AMINO ACID DIFFERENCES AMONG BOVINE β-LACTOGLOBULIN VARIANTS OF KNOWN PRIMARY STRUCTURE

Variante	Posiciones aminoacídicas										
	28	45	50	56	59	64	78	108	118	129/130	158
A						GAT (D)			GTC (V)		
B	GAC (D)	GAG (E)	CCT (P)	ATC (I)	GAG (Q)	GGT (G)	ATC (I)	GAG (E)	GCC (A)	GAC (D)	GAG (E)
C					CAC/T (H)						
D		CAG (Q)									
Dr	AAC (N)					GAT (D)			GTC (V)		
Dyak/E											GGG (G)
F			TCT (S)							TAC (Y)	GGG (G)
G							ATG (M)				GGG (G)
W				CTC (L)							
I								GGG (G)			

meras se distinguen por el cambio Y^{20}/H^{20} (GAYE *et al.*, 1986), mientras que la variante C difiere de A por la sustitución puntual D^{85}/N^{85} (ERHARDT, 1989c). A y B están universalmente distribuidas (revisado por LÓPEZ-GÁLVEZ *et al.*, 1994), siendo A el más abundante excepto en la raza Rhönschaf (AMIGO *et al.*, 1996), mientras que el descubrimiento del alelo C en ovejas Merinoland y un cruce de Hungarian Merino x Pleven (ERHARDT, 1989c), llevó al autor a sugerir que este alelo pudiera ser originario de los merinos españoles. Avala esta hipótesis la existencia de la variante C en rebaños merinos de Extremadura (Amigo, comunicación personal).

Ligamiento de los genes de las caseínas

Un aspecto de gran importancia en la genética de las proteínas lácteas es el estrecho ligamiento entre los genes de las cuatro caseínas, situación que fue descubierta y analizada en el ganado vacuno, primero entre las caseínas α_{s1} y β (GROSCLAUDE *et al.*, 1964), a las que poco después se añadió la *k* (GROSCLAUDE *et al.*, 1965). La hipótesis del ligamiento de los cuatro genes de las caseínas se demoró algo más por el tardío descubrimiento de polimorfismo genético en la α_{s2} (GROSCLAUDE *et al.*, 1976b) pero, a partir de ese momento, se confirma con rapidez (GROSCLAUDE *et al.*, 1978). El ligamiento entre los cuatro genes de las caseínas también se ha puesto de manifiesto en ovino (LEVÉZIEL *et al.*, 1991) y porcino (ARCHIBALD *et al.*, 1994), así como entre las caseínas α_{s1} y α_{s2} (GROSCLAUDE *et al.*, 1987) y α_{s1} y β (LEROUX y MARTIN, 1996) del ganado caprino.

En la especie bovina, los genes de las caseínas se encuentran situados en el cromosoma 6 (GALLAGHER *et al.*, 1994), en el orden relativo α_{s1}-β-α_{s2}-*k* (Ferretti *et al.*, 1990; THREADGILL y WOMACK, 1990), dentro de una región que FERRETTI *et al.* (1990) estiman en 250-300 Kb, mientras que THREADGILL y WOMACK (1990) lo cifran en menos de 200 Kb. Un trabajo reciente (RIJNKELS *et al.*, 1997a) confirma la primera hipótesis, cuantificando la zona en 250 Kb desde el punto de inicio de la transcripción de α_{s1} hasta el extremo 3' del gen de la *k*-caseína. El ligamiento y orden relativo de las caseínas está conservado evolutivamente entre los mamíferos, como lo demuestran trabajos análogos al de la especie bovina realizados en ratón (RIJNKELS *et al.*, 1997b) y en el hombre (RIJNKELS *et al.*, 1997c). En ovino, las caseínas residen en el cromosoma 4 ó 6 (ECHARD *et al.*, 1994).

El agrupamiento de las caseínas en una estrecha franja del genoma tiene consecuencias observables, tanto sobre las frecuencias alélicas de estos genes en las poblaciones (ya intuido por KING *et al.* (1965), al constatar la existencia de combinaciones alélicas no aleatorias –*haplotipos*– en las caseínas α_{s1} y β), como sobre la posible aplicación práctica de las variantes genéticas de las proteínas lácteas para la mejora de las características físico-químicas y/o tecnológicas de la leche, por las siguientes razones:

1. Al seleccionar en favor de un determinado alelo hay que considerar la posibilidad de estar "arrastrando" simultáneamente alelos negativos de la misma u otras caseínas para ese carácter u otro de interés. Para evitar este tipo de problemas se recomienda generar frecuencias haplotípicas en lugar de alélicas (LIEN y ROGNE, 1993; VELMALA *et al.*, 1995).

2. La gran mayoría de los trabajos de correlación entre variantes genéticas y caracteres productivos de los últimos quin-

ce años se han restringido al genotipado de algunas de las proteínas lácteas, fundamentalmente β-caseína, *k*-caseína y β-Lg, olvidándose de las demás, lo que pone en entredicho las conclusiones de ellos derivadas y explica seguramente la gran cantidad de información contradictoria que se ha generado (consúltense, por ejemplo, JAKOB y PUHAN, 1992; LIN *et al.*, 1992).

3. El desarrollo de las técnicas electroforéticas, cromatográficas y moleculares durante los últimos años ha permitido no sólo descubrir nuevas variantes genéticas en razas autóctonas de efectivos marginales, sino sobre todo desenmascarar polimorfismos antes indetectables. Sirva como botón de muestra el caso de la variante C de la *k*-caseína bovina, confundida durante mucho tiempo con la B, responsable de tiempos de coagulación bastante superiores (MACHEBOEUF *et al.*, 1993) y totalmente indeseable, pues, para la transformación de la leche en queso.

Por todas estas razones, es necesario una mejora y estandarización de los métodos de genotipado que permitan conocer de forma simultánea las frecuencias alélicas de todas las proteínas lácteas antes de extraer conclusiones sobre el interés de seleccionar a favor o en contra de un determinado haplotipo.

Influencia de las variantes genéticas de las lactoproteínas sobre las propiedades físico-químicas y tecnológicas de la leche

Durante las dos últimas décadas, un gran número de grupos de investigación ha mostrado un considerable interés en utilizar los genes de las lactoproteínas como marcadores genéticos para mejorar los aspectos cuantitativos y cualitativos de la producción láctea así como las propiedades tecnológicas de la leche.

Sin embargo, se ha de tener en cuenta que los efectos atribuidos a una cierta variante genética sobre un parámetro productivo lo son en el sentido estrictamente estadístico o, lo que es lo mismo, las diferencias observadas son meras asociaciones de las que en la mayoría de los casos nada se sabe del mecanismo fisiológico subyacente. A esto hay que añadir su posible efecto sobre otros caracteres productivos relevantes no relacionados con la producción lechera, especialmente los relativos al crecimiento, así como la existencia de combinaciones genotípicas no aleatorias de las caseínas, merced al marcado desequilibrio de ligamiento de sus genes.

Todos los comentarios subsiguientes, salvo mención específica al ovino o al caprino, se refieren a las variantes genéticas de las lactoproteínas bovinas, que son con diferencia las mejor estudiadas.

1. Producción lechera

Las conclusiones publicadas en la extensa bibliografía existente son enormemente confusas e incluso contradictorias pues, a la propia complejidad del carácter bajo estudio, hay que añadir la gran variabilidad de las condiciones experimentales de partida (tamaño de la muestra, razas implicadas, lactoproteínas estudiadas y frecuencias relativas de sus variantes, procedimientos de genotipado y variantes consideradas, método de estimación de la producción de leche –*test-day* vs. producción de la lactación completa–), así como el rigor de los ajustes estadísticos de otros factores igualmente importantes sobre la producción lechera (edad de la vaca, estación, estado sanitario o efectos de otras variantes genéti-

cas –BOVENHUIS *et al.*, 1992; FALAKI *et al.*, 1997–).

Un buen ejemplo lo constituyen las variantes genéticas de la β-Lg y de la *k*-caseína que, según los autores, bien no guardan ninguna correlación con producción lechera (MCLEAN *et al.*, 1984; NG-KWAI-HANG *et al.*, 1984), bien ofrecen mayor producción los haplotipos $\beta\text{-Lg}^{A}/k^{AB}$ (NG-KWAI-HANG *et al.*, 1986), $\beta\text{-Lg}^{AB}/k^{B}$ (FALAKI *et al.*, 1997) o $\beta\text{-Lg}^{B}/k^{AB}$ (YEBROVSKI y KOMISSARENKO, 1982). En el caso de la caseína α_{s1}, se ha descrito tanto la superioridad del genotipo BB (NG-KWAI-HANG *et al.*, 1984, 1986), por otra parte el más abundante en bovino europeo, como la ausencia de cualquier correlación (MCLEAN *et al.*, 1984). Los alelos A^2 y A^3 de β-caseína normalmente están asociados a una producción lechera más abundante (NG-KWAI-HANG *et al.*, 1986).

En caprino, los alelos fuertes en homocigosis de α_{s1} dan menor producción lechera que cualquier combinación de uno de ellos con el alelo intermedio E o los débiles D/F (BARBIERI *et al.*, 1995).

2. *Composición físico-química de la leche*

Las cantidades absolutas así como las proporciones relativas de los distintos constituyentes de la leche, especialmente la grasa y la proteína, dictan el valor de este producto en términos económicos, nutritivos y tecnológicos. Globalmente, los resultados publicados en la bibliografía arrojan conclusiones algo más claras que las comentadas en el capítulo anterior.

2.1. *Cantidad de proteína*

Los genotipos BB de β-Lg (ASCHAFFENBURG y DREWRY, 1957), BC de α_{s1} (MCLEAN *et al.*, 1984; NG-KWAI-HANG *et al.*, 1986), A^1B de β-caseína (NG-KWAI-HANG *et al.*, 1986) y BB de *k*-caseína (MCLEAN *et al.*, 1984; NG-KWAI-HANG *et al.*, 1986; RAMPILLI *et al.* 1988; VAN EENENNAAM y MEDRANO, 1991) están asociados con una cantidad de proteína total superior a los demás.

Los polimorfismos genéticos de las caseínas α_{s1}, β y *k* están asociados con el contenido de la proteína correspondiente (caso de la *k*-caseína), de otras caseínas (los alelos A^1 y A^2 de la β tienen un mayor contenido de caseínas α_s) y/o de proteínas séricas (como la caseína α_{s1}, cuyo genotipo BC está asociado a valores superiores de esta proteína e inferiores de β-Lg -NG-KWAI-HANG y GROSCLAUDE, 1992-).

En la especie caprina, el polimorfismo genético de la caseína α_{s1} (GROSCLAUDE *et al.*, 1987; GROSCLAUDE, 1988) hace oscilar los valores de esta proteína entre 0 (homocigoto nulo) y 7,2 (homocigoto 'fuerte') g/l de leche, lo que tiene importantes consecuencias sobre la cantidad de proteína total (MAHÉ *et al.*, 1993; GROSCLAUDE *et al.*, 1994; BARBIERI *et al.*, 1995).

En tecnología quesera, sin embargo, este parámetro hay que tomarlo con extremo cuidado, pues tan sólo nos interesa la proteína de origen caseínico, que es la que queda retenida en el coágulo inicial. Así, la proporción caseína/proteína total (*casein number*) o el porcentaje de caseína son índices mucho más exactos de la 'capacidad quesera' de la leche.

2.2. *Cantidad de grasa*

En la mayor parte de los trabajos, los alelos B de β-Lg (HOOGENDORN *et al.*, 1969; MCLEAN *et al.*, 1984; NG-KWAI-HANG *et al.*, 1984, 1986) y de β-caseína

(McLEAN *et al.*, 1984; Ng-KWAI-HANG *et al.*, 1986) están presentes en la leche con mayor contenido de grasa. Con la *k*-caseína, los resultados son más contradictorios, pues hay trabajos que consideran favorable el alelo A (BOVENHUIS *et al.*, 1992; FALAKI *et al.*, 1997) mientras que otros se decantan por el B (Ng-KWAI-HANG *et al.*, 1986).

Otro tanto se afirma del genotipo BC de la caseína α_{s1} (MUNRO, 1978; Ng-KWAI-HANG *et al.*, 1986) con relación al homocigoto BB. Por desgracia, en ninguno de ellos se han encontrado animales CC, por lo que no es posible discriminar por genotipos extremos el comportamiento de cada alelo por separado.

En caprino, el parámetro "cantidad de grasa" tiene un comportamiento análogo al de "cantidad de proteína", de tal manera que la leche correspondiente a las variantes fuertes de α_{s1} es la más rica en grasa (GROSCLAUDE *et al.*, 1994; BARBIERI *et al.*, 1995).

3. Propiedades tecnológicas de la leche

La mayor parte de los lactoderivados se fabrican por medio de alguno de estos tres procesos tecnológicos básicos: calentamiento, a temperaturas de entre 60 y 140°C; concentración de la leche, por evaporación o ultracentrifugación; y fermentación, enzimática o microbiana.

3.1. *Estabilidad térmica de la leche*

La estabilidad de la leche y de las proteínas lácteas al calor fue la primera propiedad tecnológica estudiada a la luz del polimorfismo genético de las lactoproteínas (GOUGH y JENNESS, 1961).

Por regla general, la pasteurización, tanto la rápida (72 °C durante 16 sg) como la lenta (63 °C durante media hora), tiene escasos efectos sobre las propiedades de la leche (DALGLEISH, 1993). Por el contrario, los tratamientos a altas temperaturas en cualquiera de sus formas provoca la desnaturalización de la β-Lg y su unión a la *k*-caseína de las micelas (FOX, 1982), proceso que se ve acelerado en las leches evaporadas (SWEETSUR y MUIR, 1980), y que interesa minimizar por sus consecuencias negativas sobre la estabilidad de la leche (KOCAK y ZADOW, 1986).

En este sentido, numerosos trabajos han confirmado diferencias de termoestabilidad entre los alelos A y B de la β-Lg y de la *k*-caseína (revisado en JAKOB y PUHAN, 1992) las cuales, sin embargo, no pueden ser consideradas como un efecto directo de las propiedades de ambas lactoproteínas, pues los alelos más favorables en la leche no concentrada, β-Lg^A y *k*-Cn^A, son los menos estables en la leche concentrada. Semejante contradicción se debe seguramente a la gran influencia que sobre la estabilidad térmica de la leche juegan la cantidad y proporciones relativas de todos los componentes de la leche, hecho que no se tiene en cuenta cuando se estudia tan sólo el polimorfismo genético de dos proteínas.

3.2. *Propiedades de coagulación*

Estudiadas por vez primera por SHERBON *et al.* (1967), las propiedades de coagulación de la leche (tiempo y velocidad de coagulación, así como amplitud máxima del coágulo) son con mucho las que guardan una correlación más estrecha con el polimorfismo genético de las lactoproteínas.

Existe un consenso general a la hora de admitir que el alelo B de la *k*-caseína da

lugar a cuajos más firmes y en menos tiempo que los derivados del alelo A (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984; Grosclaude, 1988). El efecto del alelo E parece ser similar al del alelo A (Gravert *et al.*, 1991), mientras que el alelo C está asociado a tiempos de coagulación más prolongados que A y B (Macheboeuf *et al.*, 1993).

El polimorfismo genético de la β-caseína está correlacionado con velocidad de coagulación y firmeza del cuajo casi tan significativamente como el de la *k*-caseína. El alelo B exhibe tiempos de coagulación más breves (Mariani *et al.*, 1986) y un cuajo más firme (Rampilli *et al.*, 1988) que A. No ocurre lo mismo con los genotipos de caseína α_{s1} y de β-Lg, para los que se han publicado resultados bastante contradictorios (Jakob y Puhan, 1992).

El polimorfismo de la caseína α_{s1} caprina tiene también efectos muy significativos en los parámetros de coagulación, especialmente sobre la amplitud máxima del coágulo (AA>EE>FF) y la velocidad de coagulación (AA>EE=FF) (Grosclaude *et al.*, 1994).

En la especie ovina, el genotipo AA de la β-Lg ovina proporciona un cuajo más firme y rendimientos queseros superiores a los de AB o BB en la raza Manchega (López-Gálvez *et al.*, 1993), si bien otros autores no encuentran ningún tipo de correlación (Di Stasio *et al.*, 1992).

3.3. *Calidad y rendimiento quesero*

El alelo B de la *k*-caseína proporciona rendimientos queseros de 3,5 a 8% superiores a los del alelo A en la fabricación de los quesos Parmigiano-Reggiano y Parmesano (Mariani *et al.*, 1976), Cheddar (Graham *et al.*, 1986), Camembert (Rahali y Ménard, 1991) o Buttercheese (Erhardt *et al.*, 1996). Los quesos de vacas BB tienen mayor contenido en grasa (Morini *et al.*, 1979; Graham *et al.*, 1986; Marziali y Ng-Kwai-Hang, 1986) y menor porcentaje de agua (Marziali y Ng-Kwai-Hang, 1986; Rahali y Ménard, 1991), aunque la composición final del queso depende también en gran medida del protocolo de elaboración del mismo, sobre todo de la temperatura de cocción (Schaar *et al.*, 1985).

La β-Lg^B muestra rendimientos queseros y porcentajes de proteína (Schaar *et al.*, 1985; Marziali y Ng-Kwai-Hang, 1986; Rahali y Ménard, 1991) superiores a los del alelo A. Otro tanto se puede decir del alelo A^1 de la β-caseína con respecto al A^2 (Marziali y Ng-Kwai-Hang, 1986).

En caprino, los alelos fuertes de la caseína α_{s1} proporcionan rendimientos queseros superiores a los alelos intermedio (E) y débiles (D, F) en un 7 y un 15%, respectivamente (Grosclaude *et al.*, 1994), así como cuajos más firmes (Delacroix-Bouchet *et al.*, 1996), pero un sabor 'a cabra' menos pronunciado en quesos de menos de 2 meses, que se cree debido a la menor actividad lipásica de la leche con alelos fuertes (Lamberet *et al.*, 1996).

Perspectivas futuras

En esta revisión, se ha puesto de relieve tanto la complejidad del polimorfismo genético subyacente en las seis proteínas intrínsecas de la leche de las tres especies de rumiantes domésticos, como el comportamiento diferencial de algunas de las variantes sobre ciertos parámetros físico-químicos y tecnológicos de la leche de gran importancia económica.

Sin embargo, las conclusiones apuntadas son fruto de estudios de correlación en su

mayor parte sesgados, por el escaso número de variantes contempladas, por las limitaciones metodológicas inherentes a las técnicas de fenotipado de proteínas y, en el caso de los pequeños rumiantes, por limitarse casi exclusivamente al polimorfismo de la caseína α_{s1}.

Un buen ejemplo de la necesidad de incorporar un mayor número de variantes a tales trabajos lo constituye la variante C de la *k*-caseína, tradicionalmente confundida con la B, asociada recientemente a tiempos de coagulación mucho más prolongados que A o B (MACHEBOEUF *et al.*, 1993). Por otra parte, las nuevas técnicas de genotipado molecular basadas en la PCR ofrecen una alternativa muy interesante frente a los métodos de proteínas, pues el espectro de muestras analizables no está limitado por el sexo, la edad o el estado fisiólogico de los animales, siendo suficiente como punto de partida cualquier tejido que contenga células nucleadas.

Finalmente, es de gran importancia analizar las cuatro caseínas como un todo, merced al marcado desequilibrio de ligamiento existente entre sus genes, con el fin de definir las combinaciones alélicas (haplotipos) óptimas para el objetivo de selección perseguido.

Bibliografía

ABE T., KOMATSU M., OISHI T., KAGEYAMA A., 1975. Genetic polymorphism of milk proteins in Japanese and European cattle breeds in Japan. Japanese Journal of Zootechnical Science, 46, 591-599.

ADDEO F., MAURIELLO R., MOIO L., LAEZZA P., CHIANESE L., DI LUCCIA A., 1992. Ovine casein variant identification using electrophoretic, immunochemical and chromatographic techniques. Milchwissenschatf, 47, 283-287.

ALAIS C., JOLLÈS P., 1961. Etude comparé des caséino-glycopeptides formés par l'action de la préssure sur les caséines des laits de vache, brevis et de chèvre. II. Etude de la partie non peptidique. Biochimica Biophysica Acta, 51, 315-322.

ALAIS C., JOLLÈS P., 1967. Isolation, purification and analysis of two *k*-casein-like fractions from sheep milk. Journal of Dairy Science, 50, 1555-1561.

ALEXANDER L.J., BEATTIE C.W., 1992a. Sequence of porcine β-lactoglobulin cDNA. Animal Genetics, 23, 263-265.

ALEXANDER L.J., BEATTIE C.W., 1992b. The sequence of porcine α_{s1}-casein cDNA: evidence for protein variants generated by altered RNA splicing. Animal Genetics, 23, 283-288.

ALEXANDER L.J., STEWART A.F., MACKINLAY A.G., KAPELINSKAYA T.V., TKACH T.M., GORODETSKII S., 1988. Isolation and characterization of the bovine *k*-casein gene. European Journal of Biochemistry, 178, 395-401.

ALEXANDER L.J., HAYES G., PEARSE M.J., BEATTIE C.W., STEWART A.F., WILLIS I.M., MACKINLAY, A.G., 1989. Complete sequence of the bovine β-lactoglobulin cDNA. Nucleic Acids Research, 17, 6739.

ALI S., CLARK A.J. 1988., Characterization of the gene encoding ovine β-lactoglobulin: similarity to the genes for Retinol Binding Protein and other Secretory Proteins. Journal of Molecular Biology, 199, 415-426.

AMIGO L., RECIO I., RAMOS M., 1996. Genetic polymorphism of ovine proteins: their influence on technological properties of milk. 47th EAAP Annual Meeting, Lillehammer, Norway, 25-29 August.

ARAVE C.W., GILLET T.A., PRICE D.A., MAATHEWS D.H., 1973. Polymorphism in casein of sheep milk. Journal of Animal Science, 36, 241-244.

ARCHIBALD A., COUPERWHITE S., HALEY C.S., BEATTIE C.W., ALEXANDER L.J., 1994. RFLP and linkage analysis of the porcine casein loci - CASAS1, CASAS2, CASB and CASK. Animal Genetics, 25, 349-351.

ASCHAFFENBURG R., 1961. Inherited casein variants in cow's milk. Nature, 192, 431-432.

ASCHAFFENBURG R., DREWRY J., 1955. Occurrence of different β-lactoglobulins in cow's milk. Nature, 176, 218-219.

ASCHAFFENBURG R., DREWRY J., 1957. Genetics of the β-lactoglobulins of cow's milk. Nature, 180, 376-378.

ASCHAFFENBURG R., SEN A., THOMPSON M.P., 1968. Genetic variants of casein in Indian and African Zebu cattle. Comp. Biochem. Physiol, 25, 177-184

BAKER C.M.A., MAN WELL C., 1980. Chemical classification of cattle. I. Breed groups. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 11, 127-150.

BARANYI M., BÖSZE Z.S., BUCHB ERGER, J., KRAUSE Y. ,1993. Genetic polymorphism of milk proteins in Hungarian Spotted and Hungarian Grey cattle: a possible new genetic variant of β-lactoglobulin. Journal of Dairy Science, 76, 630-636.

BARBIERI M.E., MANFREDI E., ELSEN J.M., RICORDEAU G., BOUILLON J., GROSCLAUDI F., MAHÉ M.F., BIBÉ B., 1995. Influence du locus de la caséine α_{s1} sur les performances laitières et les paramètres génétiques des chèvres de race Alpine. Genetics, Selection and Evolution, 27, 437-450.

BARROSO A., DUNNER S., CAÑÓN J., 1997. Use of a single-strand conformation polymorphism analyisis to perform a simple genotyping of bovine *k*-casein A and B variants. Journal of Dairy Research ,64, 535-540.

BARROSO A., DUNNER S., CAÑÓN J., 1998. Technical Note: Detection of bovine kappa-casein variants A, B, C, and E by means of Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP). Journal of Animal Science, 76, 1535-1538.

BELL K., 1962. One-dimensional starch gel electrophoresis of bovine skim milk. Nature 195, 705-706. Journal of Dairy Science, 62, 502-504.

BELL K., MCKENZIE H.A., 1964. β-lactoglobulins. Nature, 204, 1275-1279.

BELL K., MCKENZIE H.A., SAHW D.C., 1981b. Bovine β-lactoglobulin E, F and G of Bali (Banteng) cattle. *Bos (Bibos) javanicus*. Australian Journal of Biological Science, 34, 133-147.

BELL K., HOPPER K.E., MCKENZIE H.A., 1981a. Bovine α-lactalbumin C and α_{s1}, β and *k*-caseins of Bali (Banteng) cattle, *Bos (Bibos) javanicus*. Australian Journal of Biological Science, 34, 149-159.

BERGSTROM, S., MANSSON L., HERNELL O., LONNERDAL B., NILSSON A.K., STROMQUIST M., 1992. Cloning and sequencing of human *k*-casein cDNA. DNA Seq., 3, 245-246.

BETTINI T.M., MASINA P., 1972. Proteine e polimorfismo proteico del latte vaccino. Produzione Animale, 11, 107-126.

BLACKBURN D.E., HOBBS A.A., ROSEN J.M., 1982. Rat β-casein cDNA: sequence analysis and evolutionary comparisons. Nucleic Acids Research, 10, 2295-2307.

BLUMBERG B.S., TOMBS M.P., 1958. Possible polymorphism of bovine α-lactalbumin. Nature, 181, 683-684.

BOIRNARD M., PETRISSANT G., 1985. Complete sequence of ovine α_{s2}-casein messenger RNA. Biochimie, 67, 1043-1051.

BOISNARD M., HUE D., BOUNIOL C., MERCIER J.C., GAYE P., 1991. Multiple mRNA species code for two non-allelic forms of ovine α_{s2}-casein. European Journal of Biochemistry, 201, 633-641.

BONSING J., RING J.M., STEWART A.F., MACKINLAY A.G., 1988. Complete nucleotide sequence of the bovine β-casein gene. Australian Journal of Biological Science, 41, 527-537.

BOSZE Z., DEVINOY E., PUISSANT C., FONTAINE M.L., HOUDEBINE L.M., 1993. Characterization of rabbit *k*-casein cDNA: control of expression in vivo and in vitro. Journal of Molecular Endocrinology, 11, 9-17.

BOULANGER A., GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., 1984. Polymorphisme des caséines α_{s1} et α_{s2} de la chèvre (*Capra hircus*). Genetics, Selection and Evolution, 16, 157-176.

BOUNIOL C., PRINTZ C., MERCIER J.C., 1993. Bovine α_{s2}-casein D is generated by exon VIII skipping. Gene, 128, 289-293.

BOUNIOL C., BRIGNON G., MAHÉ M.F., PRINTZ C., 1994. Biochemical and genetic analysis of variant C of caprine α_{s2}-casein (*Capra hircus*). Animal Genetics, 25, 173-177.

BONVENHUIS H., VAN ARENDONK A.M., KORVER S., 1992. Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. Journal of Dairy Science, 75, 2549-2559.

BRAUNITZER G., CHEN R., SCHRANK B., STANGL A., 1972. Automatische Sequenzanalyse eines Proteins (β-lactoglobulin AB). Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 354, 867.

BREW K., CASTELLINO F.J., VANAMAN T.C., HILL R.L., 1970. The complete amino acid sequence of bovine α-lactalbumin. The Journal of Biological Chemistry, 245, 4570.

BRIGNON G., RIBADEAU-DUMAS B., MERCIER J.C., PELISSIER J.P., 1977. Complete amino acid sequence of bovine α_{s2}-casein. FEBS Letters, 76, 274-279.

BRIGMON, G., MAHÉ M.F., RIBADEAU-DUMAS B., MERCIER J.C., 1990. Two of the three genetic variants which are synthesized at a reduced level have an internal deletion possibly due to altered RNA splicing. European Journal of Biochemistry, 193, 237-241.

BRUNNER J.R., 1981. Cow milk proteins: twenty-five years of progress. Journal of Dairy Science, 64, 1038-1054.

CAROLI A., BOLLA P. MIGLIOR F., PAGNACCO G., MEZZELANI A., ROGNONI G., 1989. Genetic control of the *k*-casein C variant in bovine milk. Animal Genetics 20, supl., 1, 60-61.

COLL A., FOLCH J.M., SÁNCHEZ A., 1993. Nucleotide sequence of the goat *k*-casein cDNA. Journal of Animal Science, 71, 2833.

CORRADINI C., 1969. Distribution of the genetic variants of α_{s1}, β and *k*-caseins in milk from Jersey cows in the Netherlands. Netherlands Milk Dairy Journal, 23, 79-83.

CREAMER L.K., Richardson B.C., 1975. A new genetic variant of β-casein. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology, 10, 170-171.

CHIANESE L., DI LUCCIA A., MAURIELLE R., FERRARA L., ZEHENDER G., ADDEO F., 1988. Polimorfismo biochimico delle proteine del latte in bovine di razza Podolica. Zootecnia e Nutrizione Animale, 14, 189-197.

CHIANESE L., GARRO P., ADDEO F., LOPEZ-GÁLVEZ G., RAMOS M., 1993. Discovery of an ovine α_{s2}-casein variant. Journal of Dairy Research, 60, 485-493.

CHIANESE L., GARRO G., MAURIELLO R., LAEZZA P., FERRANTI P., ADDEO F., 1996. Occurrence of five α_{s1}-casein variants in ovine milk. Journal of Dairy Science, 63, 49-59.

CHIOFALO L., MICARI P., 1987. Present knowledge on the variants of the milk proteins in the sheep populations reared in Sicily. Experimental observations. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 58, 104-114.

DALGLEISH D.G., 1993. Bovine milk protein properties and the manufacturing quality of milk. Livestock Production Science 35, 75-93. Special issue: Biology of Lactation in farm animals.

DALL'OLIO, S., DAVOLI R., RUSSO V., 1989. New caprine β-casein variant. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 40, 24-28.

DAS GUPTA, N.A., ALEXANDER L.J., BEATTIE C.W., 1992. The sequence of a porcine cDNA encoding α-lactalbumin. Gene, 110, 265-266.

DAVID V.A., DEUTCH A.H., 1992. Detection of bovine α_{s1}-casein genomic variants using the allele-specific polymerase chain reaction. Animal Genetics, 23, 425-429.

DAVOLI R., DALL'OLIO S., RUSSO V., 1985. Polimorfismo delle proteine del latte nella razza ovina delle Langue. Atti VI Congresso Nazionale ASPA, 349.

DAVOLI R., DALL'OLIO S., BIGI D., 1988. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 39, 439-442.

DAWSON S.P., WILDE C.J., TIGHE P.J., MAYER R.J., 1993. Characterization of two novel casein transcripts in rabbit mammary gland. Biochemical Journal, 296, 777-784.

DELACROIX-BOLCHET A., DEGAS C., LAMBERET G., VASSAL L., 1996. Influence des variants AA et FF de la caséine α_{s1} caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles des fromages. Le Lait, 76, 217-241.

DELFOUR, A., JOLLÈS J., ALAIS C., JOLLÈS P., 1965. Caseino-glycopeptides. Characterization of a methionine residue and of the N-terminal sequence. Biochemical and Biophysical Research Communications, 19, 452.

DEVINOY E., SCHAEFER E., JOLIVET, G., FONTAINE M.L., KRAEHENBUHL J.P., HOUDEBINE L.M., 1988. Sequence of the rabbit alpha-casein cDNA. Nucleic Acids Research, 16, 11813.

DI LUCCIA A., MAURIELLO R., CHIANESSE L., MOIO L., ADDEO F., 1990. *k*-casein polymorphism in caprine milk. Scienza e Tecnica Lattiero-casearia, 41, 305-314.

DI STASIO L., 1983. New phenotypes of α_s-casein in sheep. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 14, 229-232.

DI STASIO L., MERLIN P., 1979. Polimorfismo biochimici del latte nella razza bovino Grigio Alpina. Rivista di Zootecnia e Veterinaria, 2, 64-67.

DI STASIO L., GIACCONE P., PORTOLANO B., RASERO R., 1992. β-lactoglobulin types and milk production in sheep. Proceedings of the XXIIIrd International Conference on Animal Genetics, Interlaken, Switzerland, 107.

ECHARD G., BROAD T.E., HILL D., PEARCE P., 1994. Present status of the ovine gene map *(Ovis aries)*; comparison with the bovine map. Mammalian Genome, 5, 324-332.

EIGEL, W.N., BUTLER J.E., ERNSTROM C.A., FARRELL H.M., HARWALKAR V.R., JENNES R., WHITNEY R. MCL., 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. Journal of Dairy Science, 67, 1599-1631.

ERHARDT G., 1989a. *K*-Kaseine in Rindermilch - Nachwies eines weiteren Allels (*k*-CnE) in verschidenen Rassen. Journal of Animal Breeding and Genetics, 106, 225-231.

ERHARDT G., 1989b. Genetic polymorphisms of α-lactalbumin and β-lactoglobulin in sheep milk. Animal Genetics, 20, supl. 1, 76-77.

ERHARDT G., 1989c. Evidence for a third allele at the β-lactoglobulin (β-lg) locus of sheep milk and its occurrence in different breeds. Animal Genetics, 20, 197-204.

ERHARDT G., 1993a. A new α_{s1}-casein allele in bovine and its occurrence in different breeds. Animal Genetics 24, 65-66.

ERHARDT G., 1993b. Allele frequences of milk proteins in German cattle breeds and demonstration of α_{s2}-casein variants by isoelectric focusing. Archiv für Tierzucht, 36, 145-152.

ERHARDT G., 1996. Detection of a new *k*-casein variant in milk of Pinzgauer cattle. Animal, Genetics 27, 105-107.

ERHARDT G., MÜNSHER A., BEUING R., GRANDKE, R., RENZ-SCHAUEN, A., 1996. Effect of genetic polymorphism of bovine milk proteins on cheese yield under practical conditions. 47th EAAP Annual Meeting, Lillehammer, Norway, 25-29 August.

ERHARDT, G., JUZCKAT J., PANICKE, L., KRICK-SALECK, H., 1998. Genetic polymorphism of milk proteins in Polish Red Cattle: a new genetic variant of β-lactoglobulin. Journal of Animal Breeding and Genetics, 115, 63-71.

FALAKI M., PRANDI A., CORRADINI C., SNEYERS M., GENGLER N., MASSART S., FAZZINI U., BURNY A., PORTETELLE D., RENAVILLE R., 1997. Relationships of growth hormone gene and milk protein polymorphisms to milk production traits in Simmental cattle. Journal of Dairy Research, 64, 47-56.

FERRANTI P., MALORNI A., NITTI G., LAEZZA P., PIZZANO R., CHIANESE L., ADDEO F., 1995. Primary structure of ovine α_{s1}-caseins: localization of phosphorylation sites and characterization of genetic variants A, C and D. Journal of Dairy Science, 62, 281-296.

FERRETTI L., LEONE P., SGARAMELLA V., 1990. Long range restriction analysis of the bovine casein genes. Nucleic Acids Research, 18, 6829-6833.

FOLCH J.M., COLL A., SÁNCHEZ A., 1993. Rapid Communication: cloning and sequencing of the cDNA encoding goat β-lactoglobulin. Journal of Animal Science, 71, 2832.

FOLCH J.M., COLL A., SÁNCHEZ A., 1994. Complete sequence of the caprine β-lactoglobulin gene. Journal of Dairy Science, 77, 3493-3497.

FOX F.P., 1982. Heat induced coagulation of milk. En Developments in Dairy Chemistry (P.F. Fox) 1: Proteins, Applied Science Publishers, London, 189-228.

FURET J.P., MERCIER J.C., SOULIER S., GAYE P., HUEDELAIE D., VILOTTE J.L., 1990. Nucleotide sequence of ovine *k*-casein cDNA. Nucleic Acids Research, 18, 5286.

GALLAGHER C.S., SCHELLING C.P., GROENEN M.M., WOMACK J.E., 1994. Confirmation that the casein gene cluster resides on cattle chromosome 6. Mammalian Genome, 5, 524.

GAYE P., GAUTRON MERCIER J.C., HAZÉ G., 1977. Amino terminal sequences of the precursors of ovine caseins. Biochemical and Biophysical Research Communications, 79, 903.

GAYE P., HUE-DELAHAIE D., MERCIER J.C., SOULIER S., VILOTTE J.L., FURET P., 1986. Ovine β-lactoglobulin messenger RNA: nucleotide sequence and mRNA levels during functional differentiation of the mammary gland. Biochimie, 68, 1097-1107.

GAYE P., HUE-DELAHAIE D., MERCIER J.C., SOULIER S., VILOTTE J.L., 1987. Complete nucleotide sequence of ovine α-lactalbumin mRNA. Biochimie, 69, 601-608.

GORDON W.G., 1971. α-lactalbumin. En Milk Proteins, II, ed. H.A. McKenzie, Academic Press, New York, 331-365.

GORDON W.G., GROVES M.L., GREENBERG R., JONES S.B., KALAN E.B., PETERSON R.F., TOWNED R.E., 1972. Probable identification of γ-, TS-, R- and S-caseins as fragments of β-casein. Journal of Dairy Scienc, 55, 261.

GORODESTSKII S.I., KALEDIN A.S., 1987. Analysis of nucleotide sequence of bovine *k*-casein cDNA. Genetika, 23, 398-404.

GORODESTSKII S.I., ZALJAR'EV V.M., KYARSHI'LITE D.R., KAPELINSKAYA T.V., SKRYABIN K.G., 1986. Cloning and nucleotide sequence of cDNA for bovine αs1-casein. Biokhimiia, 51, 1402-1409.

GOUGH P., JENNESS R., 1961. Heat denaturation of β-lactoglobulins A and B. Journal of Dairy Science, 44, 1163 (abstract).

GRAHAM E.R.B., MCLEAN D.M., ZVIEDRANS P., 1986. Effect of milk protein genotypes on cheesemaking. XXIInd Dairy Congress, The Hague, The Netherlands, 68.

GRAVERT H.O., SCHULTE-COERNO H., OLOFFS K., 1991. The relevance of *k*-casein for genetic differences in cheesemaking properties. Specialists' Meeting of the International Circle of Dairy Research Leaders on Genetic Polymorphisms of Milk Pro-Ç teins, 11-12 April, Laboratory of Dairy Science, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland.

GROENEN M.A.M., DIJKHOF R.J.M., VERSTEGE A.J.M., van der POEL, J.J., 1993. The complete sequence of the gene encoding bovine α_{s2}-casein. Gene, 123, 187-193.

GROSCLAUDE F., 1988. Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. INRA Productions Animales, 1, 5-17.

GROSCLAUDE F., 1991. Structure, déterminisme génétique et polymorphisme des 6 lactoprotéines principales des bovins, des caprins et des ovins. En Journées sur la qualité des laits à la production et aptitude fromagère, colloque INRA-ENSA, Rennes.

GROSCLAUDE F., GARNIER J., RIBADEAU-DUMAS B., JEUNET R., 1964. Étroite dépendance des loci contrôlant le polymorphisme des caséines α_s et β. C.R. Hebd. Séances Acad. Sci., Paris, 259, 1569-1571.

GROSCLAUDE F., PUJOLLE J., GARNIER J., RIBADEU-DUMAS B., 1965. Déterminisme génétique des caséines k du lait de vache; étroite liaison du locus *k*-Cn avec les loci α_{s1}-Cn et β-Cn. C.R. Hebd. Séances Acad. Sci., Paris, 261, 5229-5232.

GROSCLAUDE F., PUJOLLE J., GARNIER J., RIBADEAU-DUMAS B., 1966. Mise en évidence de deux variantes supplémentaires des protéines du lait de vache: α_{s1}-CnD et LgD. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 6, 215-222.

GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., MERCIER J.C., RIBADEAU-DUMAS B., 1972. Localisations des substitutions d'acides aminés différentiant les variants A et B de la *k*-caséine bovine. Annales de Génétique et de Sélection Animales, 4, 515-521.

GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., RIBADEAU-DUMAS B., 1973. Structure primaire de la caséine α_{s1} et de la caséine β bovine. European Journal of Biochemistry, 40, 323.

GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., MERCIER J.C., 1974. A comparaison du polymorphisme génétique des lactoprotéines du Zebú et des bovins. Annales de Génétique et de Sélection Animales, 6, 305-329.

GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., MERCIER J.C., BONNEMAIRE J., TEISSIER J.H., 1976a. Polymorphisme des lactoprotéines des bovines Népalais. I. Mise en évidence, chez le yak, et caractérisation biochimique de deux nouveaux variants: β-lactoglobuline D (yak) et caséine α_{s1}-E. Annales de Génétique et de Sélection Animales, 8, 461-479.

GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., MERCIER J.C., BONNEMAIRE J., TEISSIER J.H., 1976b. Polymorphisme des lactoprotéines de bovines Népalais. II. Polymorphisme des caséines 'α_s-mineurs'; le locus α_{s2}-Cn est-il lié aux loci α_{s1}-Cn, β-Cn et *k*-Cn? Annales de Génétique et de Sélection Animales, 8, 481-491.

GROSCLAUDE F., JOUDRIER P., MAHÉ M.F., 1978. Polymorphisme de la caséine α_{s2} bovine: étroite liaison du locus α_{s2}-Cn avec les loci α_{s1}-Cn, β-Cn et *k*-Cn; mise en évidence d'une délétion dans le variant α_{s2}-Cn D. Annales de Génétique et de Sélection Animale, 10, 313-327.

GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., ACCOLAS J.P., 1982. Note sur le polymorphisme génétique des lactoprotéines

de bovins et de yaks Mongols. Annales de Génétique et de Sélection Animales, 14, 545-550.

GROSCLAUDE F., MAHÉ M.F., BRIGNON C., DI STASIO L., JEUNET R., 1987. A mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α_{s1}-casein. Genetics, Selection and Evolution, 19, 399-412.

GROSCLAUDE F., RICORDEAU G., MARTÍN P., REMEUF F., VASSAL L., BOUILLON J., 1994. Du gène au fromage: le polymorphisme de la caséine α_{s1} caprine, ses effets, son évolution. INRA Productions Animales, 7, 3-19.

HALL L., CRAIG R.K., EDBROOKE M.R., CAMPBELL P.N., 1982. Comparison of the nucleotide sequence of cloned human and guinea-pig pre-α-lactalbumin cDNA with that of chicken pre-lysozyme cCNA suggests evolution from a common ancestor. Nucleic Acids Research, 10, 3503-3515.

HALL L., LAIRD J.E., PASCALL J.C., CRAIG R.K., 1984. Guinea-pig casein A cDNA. European Journal of Biochemistry, 138, 585-589.

HALL L., EMERY, D.C., DAVIES M.S., PARKER D., CRAIG R.K., 1987. Organization and sequence of the human α-lactalbumin gene. Biochemical Journal, 242, 735-742.

HAN S.K., CHUNG E.Y., LEE K.M., 1983. Studies on the genetic polymorphism of milk proteins in Korean cattle. Proceedings of the 5th World Conference on Animal Production, 2, 51-52.

HANSSON L., EDLUNG A., JOHANSSON T., HERNELL O., STROMQUIST M., LINDQUIST S., LONNERDAL B., BERGSTROM S., 1994. Structure of the human β-casein encoding gene. Gene, 139, 193-199.

HARRIS S., ALI S., ANDERSON S., ARCHIBALD A.L., CLARK A.J., 1988. Complete nucleotide sequence of the genomic ovine gene. Nucleic Acids Research, 16, 10379-10380.

HAYES H.C., PETIT E.J., 1993. Mapping of the β-lactoglobulin gene and of an immunoglobulin M heavy chain-like sequence to homeologous cattle, sheep and goat chromosomes. Mammalian Genome, 4, 207-210.

HIROAKA Y., SEGAWA T., KUWAJIMA K., SUGAI S., MURAI N., 1980. α-lactalbumin: a calcium metallo-protein. Biochemical and Biophysical Research Communications, 93, 1098-1104.

HOOGENDORN M.P., MOXLEY J.E., HAWES R.O., MACRAE H.F., 1969. Separation and gene frequencies of blood serum transferrin, casein and β-lactoglobulin loci of dairy cattle and their effects on certain production traits. Canadian Journal of Animal Science, 49, 331-341.

IKONEN T., RUOTTINEN O., ERHARDT G., OJALA M. , 1996. Allele frequencies of the major milk proteins in the Finnish Ayrshire and detection of a new *k*-casein variant. Animal Genetics, 27, 179-181.

JAKOB E., 1991. Frequencies of casein phenotypes and haplotypes in different breeds in Switzerland and the effect of *k*-casein C and E on renneting properties of milk. Material of Specialists Meeting of the International Circle of Dairy Research Leaders on Genetic Polymorphism of Milk Proteins, Zurich, 11-12 April.

JAKOB E, PUHAN Z., 1992. Technological properties of milk as influenced by genetic polymorphism of milk proteins - a review. International Dairy Journal, 2, 157-178.

JANSÀ M., LEROUX C., SÁCHEZ-BONASTRE A., MARTÍN P., 1994. Occurrence of a LINE sequence in the 3' UTR of the goat α_{s1}-casein E encoding allele associated with reduced protein synthesis level. Gene, 147, 179-187.

JAUBERT A., MARTÍN P., 1992. Reverse-phase HPLC analysis of goat caseins. Identification of α_{s1} and α_{s2} genetic variants. Le Lait, 72, 235-247.

JOLIVET G., DEVINOY, E., FONTAINE M.L., HOUDEBINE L.M., 1992. Structure of the gene encoding rabbit α_{s1}-casein. Gene, 113, 257-262.

JOLLÉS J., ALAIS C., JOLLÉS P., 1968. The tryptic peptide with the rennin-sensitive linkage of cow's *k*-casein. Biochimica Biophysica Acta, 168, 591.

JOLLÉS J., FIAT A.M., SCHOENTGEN F., ALAIS C., JOLLÉS P., 1974. The amino acid sequence of sheep *k*-A-casein. II. Sequence studies concerning the *k*-A-caseinoglycopeptide and establishment of the complete primary structure of the protein. Biochimica Biophysica Acta, 365, 335.

JONES W.K., YU-LEE L.Y., CLIFT S.M., BROWN T.L., ROSEN J.M., 1985. The rat casein multigene family. Fine structure and evolution of the β-casein gene. The Journal of Biological Chemistry, 260, 7042.

JORDANA J., SÁNCHEZ A., JANSÀ M., MAHÉ M.F., GROSCLAUDE F., 1991. Estudio comparativo de las

razas caprinas españolas en relación a las variantes de la caseína α_{s1}. ITEA, 11, 598-600.

KAMINSKI S., 1996. Bovine kappa-casein (CASK) gene - molecular nature and application in dairy cattle breeding. Journal of Applied Genetics, 37, 179-196.

KING J.W.B., 1966. The casein of sheep's milk. En Polymorphismes Biochimiques des Animaux, Proceedings of the Xth European Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphisms, Paris, 427-431.

KING J.W.B., Aschaffenburg R., KIDDY C.A., THOMPSON M.P., 1965. Non-independent occurrence of α_{s1} and β-casein variants of cow's milk. Nature, 206, 424.

KOCAK H.R., ZADOW J.G., 1986. Storage problems in UHT milk: age gelation. Food Technol. Australia, 38, 148-151.

KOCZAN D., HOBOM G., SEYFERT H.M., 1991. Genomic organization of the bovine α_{s1}-casein gene. Nucleic Acids Research, 19, 5591-5596.

KOLDE H.J., BRAUNITZER G., 1983. The primary structure of ovine β-lactoglobulin. 1. Isolation of the peptides and sequence. Milchwissenschaft, 38, 18-20.

KRAUSE I., BUCHBERGER J., WEIB G., PFLÜGLER M., KLOSTERMEYER H., 1988. Isoelectric focusing in immobilized pH gradients with carrier ampholytes added for high-resolution of bovine β-lactoglobulins: characterization of a new genetic variant. Electrophoresis, 9, 609-613.

KUMAGAI I., TAMAKI E., KAKINUMA S., MIURA K., 1987. Molecular cloning and sequencing of cDNA encoding goat pre-α-lactalbumin. The Journal of Biological Chemistry, 101, 511-517.

LAIRD J.E., JACK L., HALL L., BOULTON A.P., PARKER D., CRAIG R.K., 1988. Structure and expression of the guinea-pig α-lactalbumin gene. Biochemical Journal, 254, 85-94.

LAMBERET G., DEGAS C., DELACROIX-BOUCHET A., VASSAL L., 1996. Influence des caractères liés aux allèles A et F de la caséine α_{s1} caprine sur la flaveur chèvre: fabrications fromagères ave échange de protéines et de matières grasses. Le Lait, 76, 349-361.

LARSEN B., THYMANN W., 1966. Studies on milk protein polymorphism in Danish cattle and the interaction of the controlling genes. Acta Agricultura Scandinavica, 7, 189-205.

LARSEN B., GRUCHY C.L., MOUSTGAAD J., 1974. Studies on blood groups and polymorphic protein systems in Jersey cattle on the Isle of Jersey. Acta Agricultura Scandinavica, 24, 99-110.

LEROUX C., MARTÍN P., 1996. The caprine α_{s1}- and β-casein genes are 12 kb apart and convergently transcribed. Proceedings of the XXVth International Conference on Animal Genetics, Tours, France, 147.

LEROUX C., MARTÍN P., MAHÉ M.F., LEVÉZIEL H., MERCIER J.C., 1990. Restriction fragment length polymorphism identification of goat α_{s1}-casein alleles: a potential tool in selection of individuals carrying alleles associated with a high level protein synthesis. Animal Genetics, 21, 341-351.

LEROUX C., MAZURE N., MARTÍN P., 1992. Mutations away from splice site recognition sequences might cis-modulate alternative splicing of goat α_{s1}-casein transcripts. Structural organization of the relevant gene. The Journal of Biological Chemistry, 267, 6147-6157.

LEVÉZIEL H., METENIER L., GUERIN G., CULLEN P., PROVOT C., BERTAUD M., MERCIER J.C., 1991. Restriction fragment length polymorphism of ovine casein genes: close linkage between the α_{s1}, α_{s2}, β and *k*-casein loci. Animal Genetics, 22, 1-10.

LEVÉZIEL H., METENIER L., MAHÉ M.F., CHOPLAIN J., FURET J.P., PABOEUP G., MERCIER J.C., GROSCLAUDE F., 1988. Identification of the two common alleles of the bovine *k*-casein locus by the RFLP technique, using the enzyme HindIII. Genetics, Selection and Evolution, 20, 247-254.

LEVÉZIEL H., RODELLAR C., LEROUX C., PEPIN L., GROHS C., VAIMAN D., MAHÉ M.F., MARTÍN P., GROSCLAUDE F., 1994. A microsatellite within the bovine *k*-casein gene reveals a polymorphism correlating strongly with polymorphisms previously described at the protein as well as at the DNA level. Animal Genetics, 25, 223-228.

LEVINE W.B., ALEXANDER L.J., HOGANSON G.E., BEATTIE C.W., 1992. Cloning and sequencing of the porcine *k*-casein cDNA. Animal Genetics, 23, 361-363.

LIEN S., ROGNE S., 1993. Bovine casein haplotypes: number, frequencies and applicability as genetic markers. Animal Genetics, 24, 373-376.

LIEN S., ALESTROM P., KLUNGLAND H., ROGNE S., 1992. Detection of multiple β-casein (CASB) alleles by amplification created restriction sites (ACRS). Animal Genetics, 23, 333-338.

LIN C.Y., SABOUR M.P., LEE A.J., 1992. Direct typing of milk proteins as an aid for genetic improvement of dairy bulls and cows: a review. Animal Breeding Abstracts 60, 1.

LÓPEZ-GÁLVEZ G., 1993. Estudio del polimorfismo de las proteínas de leche de oveja de las razas Manchega y Segureña. Aptitud a la coagulación y rendimiento quesero. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid.

LÓPEZ-GÁLVEZ G., RAMOS M., MARTÍN-ÁLVAREZ P.J., JUÁREZ M., 1993. Influence of milk protein polymorphism on cheese producing ability in the milk of Manchega ewes. International Seminar on Factors affecting Yield of Cheese and System for its control. FIL-IDF. Cork, Ireland.

LÓPEZ-GÁLVEZ G., RAMOS M., JUÁREZ M., 1994. Revisión. Polimorfismo genético de las proteínas de leche de oveja. Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, 34, 609-622.

LÓPEZ-GÁLVEZ G., JUÁREZ M., RAMOS M. 1995. Two dimensional electrophoresis and immunoblotting for the study of ovine whey protein polymorphism. Journal of Dairy Research 62, 311-320.

MACHEBOEUF D., COULON J.B., D'HOUR P., 1993. Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cows' milk coagulation properties. Journal of Dairy Research, 60, 43-54.

MAES E., PRIEELS J.P., DOLMANS M., LEONIS J., 1976. Identification of two genetic variants of goat α-lactalbumin. Arch Int Physiol Biochim, 84, 641-642.

MAHÉ M.F., GROSCLAUDE F., 1989. αs1-CnD, another allele associated with a decreased synthesis rate at the caprine α_{s1}-casein locus. Genetics, Selection and Evolution, 21, 127-129.

MAHÉ M.F., MANFREDI E., RICORDEAU G., PIACÈRE A., GROSCLAUDE F., 1993. Effets du polymorphisme de la caséine α_{s1} sur les performances laitières: analyse intradescendande de boucs de race Alpine. Genetics, Selection and Evolution, 26, 151-157.

MARIANI P., LOSI G., RUSSO V., CASTAGNETTI G.B., GRAZIA, L., MORINI D., FOSSA E., 1976. Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B della *k*-caseina nella produzione del formaggio Parmigiano-Reggiano. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 27, 208-227.

MARIANI P., MEAZZA M., RESMINI P., PAGANI M.A., PECORARI M., FOSSA E., 1986. Osservazioni su tipi di β-caseina e caratteristiche di coagulazione del latte. L'Industria del Latte, 22, 35-58.

MARTÍN P., 1993. Polymorphisme génétique des lactoprotéines caprines. Le Lait, 73, 511-532.

MARTÍN P., GROSCLAUDE F., 1993. Improvement of milk protein quality by gene technology. Livestock Production Science, 35, 95-115. Special issue: Biology of Lactation in farm animals.

MARTÍN P., BRIGNON G., FURET J.P., LEROUX C., 1996. The gene encoding α_{s1}-casein is expressed in human mammary epithelial cells during lactation. Le Lait, 76, 523-535.

MARZIALI A.S., NG-KWAI-HANG K.F., 1986. Effects of milk composition and genetic polymorphism on cheese composition. Journal of Dairy Science, 69, 2533-2542.

MAURIELLO R., ADDEO F., PIERAGOSTINI E., BUFANO G., 1990. Casein polymorphism in Altamurana sheep breed. Scienza e Tecnica Lattiero-casearia, 41, 357-364.

MCGILLIVRAY R.T., BREW, K., BARNES K., 1979. The amino acid sequence of goat α-lactalbumin. Archives of Biochemistry and Biophysics, 197, 404-414.

MCLEAN D.M., GRAHAM E.R.B., PONZONI R.W., MCKENZIE H.A., 1984. Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. Journal of Dairy Research, 51, 531-546.

MEDRANO J.F., AGUILAR-CÓRDOVA E., 1990. Genotyping of bovine *k*-casein loci following DNA sequence amplification. Bio/Technology, 8, 144-146.

MEPHAM T.B., GAYE P., MARTÍN P., MERCIER J.C., 1992. Biosynthesis of milk protein. En Advanced Dairy Chemistry (P.F. Fox) 1: Proteins, Applied Science Publishers, London, 491-543

MERCIER J.C., GROSCLAUDE F., 1993. Génétique moléculaire des protéines du lait et de leurs gènes. En Biologie de la Lactation, Editions INSERM/INRA Editions, Paris/Versailles, 319-347.

MERCIER J.C., BRIGNON C., RIBADEAU-DUMAS B., 1973. Structure primaire de la caséine *k*B bovine. Sequence complete. European Journal of Biochemistry 35, 222.

MERCIER J.C., HAZE G., PETRISSANT G., HUE-DELAHAIE, D., BOISNARD M., 1978. Biochemical and Biophysical Research Communications, 85, 662-670.

MERCIER J.C., GAYE P., SOULIER S., HUE-DELAHAIE D., VILOTTE J.L., 1985. Construction and identification of recombinant plasmids carrying cDNAs coding for ovine α_{s1}, α_{s2}, β, *k*-casein and β-lactoglobulin. Nucleotide sequence of α_{s1}-casein cDNA. Biochimie, 67, 959-971.

MERCIER J.C., VILOTTE J.L., PROVOT C., 1990. Structure and function of milk protein genes. En Genome Analysis in Domestic Animals (H. Geldermann y F. Ellendorf), VCH, Weinheim, Germany, 233-258.

MIRANDA G., ANGLADE P., MAHÉ M.F., ERHARDT G., 1993. Biochemical characterization of the bovine genetic *k*-casein C and E variants. Animal Genetics, 24, 27-31.

MOHR U., KOCZAN D., LINDER D., HOBOM G., ERHARDT G., 1994. A single point mutation results in A allele-specific exon skipping in the bovine α_{s1}-casein mRNA. Gene, 143, 187-192.

MORINI D., LOSI G., CASTAGNETTI G.B., MARIANI P., 1979. Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B della *k*-caseina: rilievi sul formaggio stagionato. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 30, 243-262.

MUNRO G.L., 1978. Effect of genetic variants of milk proteins on yield and composition of milk. Proceedings of the XXth International Dairy Congress, Paris, 10.

NAKASHI H.L., GRANTHAM F.H., GULLINO P.M., 1984. Expression of *k*-casein in normal and neoplastic rat mammary gland is under the control of prolactin. The Journal of Biological Chemistry, 259, 14894-14898.

NEELIN J.M., 1964.Variants of *k*-casein revealed by improved starch gel electrophoresis. Journal of Dairy Science, 47, 506-509.

NG-KWAI-HANG, K.F., GROSCLAUDE F., 1992. Genetic polymorphism of milk proteins. En Advanced Dairy Chemistry (P.F. FOX) 1: Proteins, Applied Science Publishers, London, 405-455.

NG-KWAI-HANG K.F., HAYES J.F., MOXLEY, J.E., MONARDES H.G., 1984. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat and protein production by dairy cattle. Journal of Dairy Science, 67, 835-840.

NG-KWAI-HANG K.F., HAYES J.F., MOXLEY J.E., MONARDES H.G., 1986. Relationships between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. Journal of Dairy Science, 69, 22-26.

OLLIVIER-BOUSQUET, M., 1993. Sécrétion des caséines: régulation hormonale. En Biologie de la Lactation, Editions INSERM/INRA Editions, Paris/Versailles, 367-387.

PASSEY R.J., MACKINLAY A.G., 1995. Characterisation of a second, apparently inactive copy of the bovine β-lactoglobulin gene. European Journal of Biochemistry, 233, 736-743.

PÉREZ M.D., CALVO M., 1995. Interaction of β-lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review. Journal of Dairy Science, 78, 978-988.

PIREDDA G., PAPOFF C.M., SANNA S.R., CAMPUS R.L., 1993. Influence of ovine α_{s1}-casein genotype upon the physicochemical and lactodynamographic characteristics of milk. Scienza e Tecnica Lattiero-casearia, 44, 135-143.

PRÉAUX G., BRAUNITZER G., SCHRANK B., STANGL A., 1979. The amino acid sequence of goat β-lactoglobulin. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 360, 1595-1604.

PRINZENBERG E.M., HIENDLEDER S., IKONEN T., ERHARDT G., 1996. Molecular genetic characterization of new bovine kappa-casein alleles $CSN3^F$ and $CSN3^G$ and genotyping by PCR-RFLP. Animal Genetics, 27, 347-349.

PROVOT C., PERSUY M.A., MERCIER J.C., 1989. Complete nucleotide sequence of ovine β-casein cDNA: inter-species comparison. Biochimie, 71, 827-832.

PROVOT C., PERSUY M.A., MERCIER J.C., 1995. Complete sequence of the ovine β-casein gene. Gene, 154, 259-263.

QASBA P.K., SAFAYA S.K., 1984. Similarity of the nucleotide sequences of rat α-lactalbumin and chicken lysozyme genes. Nature, 308, 377-380.

RAHALI V., MENARD J.L., 1991. Influence des variants génétiques de la β-lactoglobuline et la *k*-caséine sur la composition du lait et son aptitude fromagère. Le Lait, 71, 275-297.

RAMPILLI M., CAROLI A., BOLLA P., PIRLO G., 1988. Relationships of milk protein genotypes with casein composition and rennet ability of milk during lactation. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 39, 262-279.

RAMUNNO L., RANDO A., DI GREGORIO P., MASSARI M., BLASSI M., MASINA P., 1991. Structura genetica di alcune populazioni caprine allevate in italian a locus della caseina α_{s1}. IX Congr. Naz ASPA, 579-589.

RAMUNNO L., COSENZA G., RANDO A., MACCIOTTA N.P.P., PAPPALARDO M., MASINA P., 1997. Identification of carriers of the Welsh α_{s1} variant using an allele-specific PCR method. Animal Genetics, 28, 150-158.

RANDO A., PAPPALARDO M., CAPUANO M., DI GREGORIO P., RAMUNNO L., 1996. Two mutations might be responsible for the absence of β-casein in goat milk. Proceedings of the XXVth International Conference on Animal Genetics, Tours, France, 50.

RECIO I., PÉREZ-RODRÍGUEZ M.L., AMIGO L., RAMOS M., 1997. Study of the polymorphism of caprine milk caseins by capillary electrophoresis. Journal of Dairy Research, 64, 515-523.

RIBADEAU-DUMAS B., BRIGNON G., GROSCLAUDE F., MERCIER J.C., 1972. Structure primaire de la caséine β bovine. European Journal of Biochemistry, 25, 505.

RICHARDSON B.C., CREAMER L.K., 1976. Comparative micelle structure. The isolation and characterization of the major ovine caseins. New Zealand Journal of Dairy Science, 11, 46-53.

RIJNKELS M., WHEELER D.A., DE BOER P.M., PIERER F.R., 1997b. Structure and expression of the mouse casein gene locus. Mammalian Genome, 8, 9-15.

RIJNKELS M., KOOIMAN P.M., DE BOER H.A., PIEPER F.R. 1997a. Organization of the bovine casein locus. Mammalian Genome, 8, 148-152.

RIJNKELS M., MEERSHOEK E., DE BOER H.A., PIEPER F.R. 1997c. Physical map and localization of the human casen gene locus. Mammalian Genome 8, 285-286.

ROBERTS B.T., DITULLIO P., VITALE J., HEHIR K., GORDON K., 1992. Cloning of the goat β-casein gene and expression in transgenic animals. Gene, 121, 255-262.

ROLLEMA H.S., 1992. Casein association and micelle formation. En Advanced Dairy Chemistry (P.F. Fox) 1: Proteins, Applied Science Publishers, London, 111-140.

RUSSO V., MARIANI P., 1978. Polimorfismo delle proteine del latte e relazioni tra varianti genetiche e caratteristiche di interesse zootecnico, technologico e caseario. Rivista di Zootecnia e Veterinaria, 6, 365-379.

RUSSO V., DAVOLI R., DALL'OLIO S., TEDESCHI M., 1986. Ricerche sul polimorfismo del latte caprino. Zootecnia e Nutrizione Animale, 12, 55-62.

SAIKI R.K., SCHARF S., FALOONA F., MULLIS K.B., HORN G.T., ERLICH H.A., ARNHEIM N., 1985. Enzymatic amplification of β-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science, 230, 1350-1354.

SCHAAR J., HANSSON B., PETTERSON H.E., 1985. Effects of genetic variants of *k*-casein and β-lactoglobulin on cheesemaking. Journal of Dairy Research, 52, 429-437.

SCHMIDT D.G., 1964. Starch gel electrophoresis of *k*-casein. Biochimica Biophysica Acta, 90, 411-414.

SEIBERT B., ERHARDT G., SENFT B., 1985. Procedure for simultaneous phenotyping of genetic variants in cow's milk by isolectric focusing. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 16, 183-191.

SEIBERT B., ERHARDT G., SENFT B., 1987. Detection of a new *k*-casein variant in cow's milk. Animal Genetics, 18, 269-272.

SERBON J.W., LEDFORD R.A., REGENSTEIN J., THOMPSON M.P., 1967. Variants of milk proteins and their possible relation to milk properties. Journal of Dairy Science, 50, 951 (abstract).

SOULIER S., MERCIER J.C., VILOTTE J.L., ANDERSON J., CLARK A.J., PROVOT C., 1989. The bovine and ovine genomes contain multiple sequences homologous to the α-lactalbumin-encoding gene. Gene, 83, 331-338.

STAMBEKOV S.Z., SHAPIRO Y.U.O., MANDRUSOVA E.E., ROMANYUF N.A., 1974. Polymorphism of milk proteins in Latvian Darkheaded ewes. D.S.A., 39, 1100.

STEWART A.F., BONSING J., BEATTLE C.W., SHAH F., WILLIS I.M., MACKINLAY A.G., 1987. Complete nucleotide sequences of bovine α_{s2} and β-casein cDNAs: comparisons with related sequences in

other species. Molecular Biology and Evolution, 4, 231-241.

SWAISGOOD H.E., 1992. Chemistry of the caseins. En Advanced Dairy Chemistry (P.F. Fox) 1: Proteins. Applied Science Publishers, London, 63-110.

SWEETSUR A.W.M., MUIR D.D., 1980. Effect of concentration by ultrafiltration on the heat stability of skimmilk. Journal of Dairy Research, 47, 327-335.

THEPOT, D., DEVINOY E., FONTAINE M.L., HOUDEBINE L.M., 1991. Structure of the gene encoding rabbit β-casein. Gene, 97, 301-306.

THOMPSON M.D., DAVE J.R., NAKASHI H.L., 1985. Molecular cloning of mouse mammary gland *k*-casein: comparison with rat *k*-casein and rat and human g-fibrinogen. DNA 4, 263-271.

THOMPSON M.P., KIDDY C.A., PEPPER L., ZITTLE C.A., 1962. Variations in the α_s-casein fraction of individual cow's milk. Nature, 195, 1001-1002.

THREADGIL D.W., WOMACK J.E., 1990. Genomic analysis of the major bovine milk protein genes. Nucleic Acids Research, 18, 6935-6942.

VAN EENENNAM A., MEDRANO J.F., 1991. Milk protein polymorphisms in California dairy cattle. Journal of Dairy Science 74, 1730-1742.

VELMALA R., VILKKI J., ELO K., MÄKI-TANILA A, 1995. Casein haplotypes and their association with milk production traits in the Finnish Ayrshire cattle. Animal Genetics, 26, 419-425.

VILOTTE J.L., SOULIER S., 1992. Isolation and characterization of the mouse α-lactalbumin encoding gene: interspecies comparison, tissue- and stage-specific expression. Gene, 119, 287-392.

VILOTTE J.L., SOULIER S., MERCIER J.C., GAYE P., HUE-DELAHAIE D., FURET, P., 1987. Complete nucleotide sequence of bovine α-lactalbumin gene: comparison with its rat counterpart. Biochimie, 69, 609-620.

VILOTTE J.L., SOULIER S., PPRINTZ C., MERCIER J.C., 1991. Sequence of the goat α-lactalbumin-encoding gene: comparison with the bovine gene and evidence of related sequences in the goat genome. Gene, 98, 271-276.

VILOTTE J.L., SOULIER S., MERCIER J.C., 1992. Sequence of the murine α-lactalbumin encoding cDNA: interspecies comparison of the coding frame and deduced preprotein. Gene, 112, 251-255.

VOGLINO G.F., 1972. A new β-casein variant in Piedmont cattle. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 3, 61-62.

WANG M.G., SCOTT W.A., RAO K.R., UDEY J., CONNER G.E., BREW K., 1989. Recombinant bovine a-lactalbumin obtained by limited proteolysis of a fusion protein expressed at high levels in E. coli. The Journal of Biological Chemistry, 264, 21116-21121.

WAUGH D.F., von HIPPEL P.H., 1956. Journal of the American Chemical Society, 78, 4576.

WHITNEY R. McI., BRUNNER J.R., EBNER K.E., FARRELL H.M., JOSEPHSON J.R.V., MORR C.V., SWAISGOOD H.E., 1976. Nomenclature of the proteins of the cow's milk: fourth revision. Journal of Dairy Science, 59, 795.

WOYCHIK J.H., 1964. Polymorphism in *k*-casein of cow's milk. Biochemical and Biophysical Research Communications, 16, 267-271.

YEBROVSKY L.S., KOMISSARENKO A., 1982. Effect of genotype on intra-breed variation in the amino acid content of milk proteins. Proceedings of the XXIst International Dairy Congress, Moscú, 1, 46.

YOSHIMURA M., BANERJEE M.R., OKA T., 1986. Nucleotide sequence of a cDNA encoding mouse β-casein. Nucleic Acids Research, 14, 8224.

ZARAZAGA I., GARCÍA-MURO E., MARTÍN-BRURRIEL I., RODELLAR C., 1996. Genotyping milk proteins by PCR in the Spanish Menorquina cattle breed. Proceedings of the XXVth International Conference on Animal Genetics, Tours, France, 43.

(Aceptado para publicación el 23 de diciembre de 1998)