

## Polimorfizam proteina mlijeka u odnosu na proizvodnju i sastav mlijeka

Mr. Neven ANTUNAC, doc. dr. Jasmina LUKAČ-HAVRANEK, Ino ČURIK,  
dipl. inž., Dubravka SAMARŽIJA, dipl. inž.,  
Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zavod za mljekarstvo, Zagreb

Pregledni članak — Review  
Prispjelo: 22. 11. 1991.

UDK:637.041/043/045

### Sažetak

*Rad obuhvaća pregled rezultata analize polimorfizma proteina mlijeka većeg broja autora. Utjecaj različitih genotipova  $\alpha_{s1}$ ,  $\beta$ -,  $\kappa$ -kazeina i  $\beta$ -laktoglobulina vezan je za količinu mlijeka, mast i protein te uz postotak pojedinih sastojaka u mlijeku i njihov međusobni omjer. Cilj je obuhvaćenog pregleda utvrđivanje najpovoljnijih genetskih varijanti proteina mlijeka na osnovi kojih je moguće poboljšati kvalitetu i proizvodne osobine mlijeka. Uz poznavanje frekvencija određenih alela u populaciji krava, te uz činjenicu da se ovi geni vezano nasljeđuju, najpovoljnije genetske varijante je moguće iskoristiti i u selekciji bikova koji se koriste za umjetno osjemenjivanje.*

### Uvod

Prošlo je trideset i šest godina otkako su Aschaffenburg i Drewry (1955) otkrili postojanje polimorfizma za  $\beta$ -laktoglobulin kravljeg mlijeka. Danas je poznat polimorfizam  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\kappa$ -kazeina,  $\beta$ -laktoglobulina i  $\alpha$ -laktoalbumina. Njihovo djelovanje na količinu i sastav mlijeka posljednjih godina postalo je predmetom mnogobrojnih istraživanja. Osnovna ideja ovih istraživanja je potraga za najpoželjnijim genetskim varijantama koje bi našle primjenu u mljekarskoj industriji, a komercijalno se mogu iskoristiti kao dodatni kriterij u selekciji bikova koji se koriste za umjetno osjemenjivanje.

### 1. Polimorfizam proteina mlijeka

Cavalli-Sforza & Bodmer (1971) polimorfizmom smatraju postojanje dva ili više alela u istom lokusu u istoj populaciji. Određeni lokus smatramo poliformnim ako frekvencija najučestalijeg alela nije veća od 0,95 ili 0,99 ovisno o kriteriju koji koristimo.

Prema primarnoj strukturi pojedinih kazeinskih frakcija do danas znamo za pet različitih (A, B, C, D i E) varijanti  $\alpha_{s1}$ -kazeina, četiri (A, B, C i D) varijante  $\alpha_{s2}$ -kazeina, sedam (A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup>, B, C, D i E) varijanti  $\beta$ -kazeina i četiri (A, B, C i E) varijante  $\kappa$ -kazeina (Eigel i sur., 1984; Erhardt, 1989).

Dva, s tehnološkog stanovišta značajna proteina sirutke,  $\alpha$ -laktoalbumin i  $\beta$ -laktoalbumin također se pojavljuju u obliku polimorfa. Redoslijed aminokiselina poznat je za A i B varijantu  $\alpha$ -laktoalbumina te A, B, C, D i E varijantu  $\beta$ -laktoglobulina, a nepoznat za C varijantu  $\alpha$ -laktoalbumina te F, G i H varijantu  $\beta$ -laktoglobulina, (Bell i sur., 1981; Eigel i sur., 1984).

Pojedine varijante, kontrolirane autosomnim alelima s intermedijarnom ekspresijom, nasljeđuju se po najjednostavnijim pravilima Mendelove

Genetike (Lin i sur., 1986). Aleli odgovorni za sintezu  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - i  $\kappa$ -kazeina nasljeđuju se vezano (Grosclaude, 1988; Hines i sur., 1969), a fizikalnim mapiranjem genoma goveda utvrđeno je da se nalaze na 6. kromosomu (Threadgill i Womack, 1990).

## 2. Odnos genetičkih varijanti proteina mlijeka i količine mlijeka, masti i proteina

Genetska istraživanja varijante proteina proučavala su i utjecaj pojedinih genetskih varijanti na količinu mlijeka, proteina i masti na kraju laktacije.

### a) Genotip proteina mlijeka i količina mlijeka

Količina mlijeka signifikantno je povezana s utjecajem genotipova  $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ -,  $\kappa$ -kazeina i  $\beta$ -laktoglobulina. Krave  $\alpha_{s1}$ -Cn BB genotipa proizvela su više mlijeka u laktaciji u odnosu na  $\alpha_{s1}$ -Cn BC (Aleandri i sur., 1990; Lin i sur., 1986; Ng-Kwai-Hang i sur., 1986) i  $\alpha_{s1}$ -Cn AB genotipova (Ng-Kwai-Hang i sur., 1984, 1986). Povoljniji utjecaj na količinu mlijeka  $\beta$ -Cn A<sup>2</sup> alela u odnosu na  $\beta$ -Cn A<sup>1</sup> alel navode Ng-Kwai-Hang i sur. (1984) i Lin i sur., (1989). Ng-Kwai-Hang i sur. (1986) tvrde da je genotip AB  $\kappa$ -kazeina povezan s većom količinom mlijeka po kravi u usporedbi s AA i BB genotipovima.

O utjecaju različitih varijanti  $\beta$ -laktoglobulina na količinu mlijeka postoje suprotni rezultati. Tako autori (Aleandri i sur., 1990; Arave i sur., 1971; Ng-Kwai-Hang i sur., 1986) smatraju da genotip  $\beta$ -Lg AA daje signifikantno veću količinu mlijeka u usporedbi s  $\beta$ -Lg BB. Suprotno, Meyer i sur. 1990. navode signifikantno nižu količinu mlijeka za krave AA  $\beta$ -Lg od AB  $\beta$ -Lg i BB  $\beta$ -Lg genotipova.

### b) Genotip proteina mlijeka i količina mlječne masti

Utvrđena je veća količina mlječne masti na kraju laktacije za  $\alpha_{s1}$ -Cn BB u odnosu na  $\alpha_{s1}$ -Cn AB (Ng-Kwai-Hang, 1984) i  $\alpha_{s1}$ -Cn BC varijante. (Aleandri i sur., 1990). Uspoređujući varijantu  $\beta$ -kazein lokusa Ng-Kwai-Hang i sur. (1984) smatraju da A<sup>1</sup> alel pokazuje malu prednost u odnosu na A<sup>2</sup> alel. U istraživanju Lina i sur. (1986) utvrđen je utjecaj  $\beta$ -laktoglobulin lokusa na količinu mlječne masti, genotip BB povoljniji je od genotipa AB.

### c) Genotip proteina mlijeka i količina ukupnih proteina

Nasuprot AB varijanti, Ng-Kwai-Hang i sur. (1984) smatraju povoljnijom BB varijantu  $\alpha_{s1}$ -kazeina, dok su Aleandri i sur. (1990) došli do zaključka da je BB varijanta povoljnija od BC varijante. Promatrajući  $\beta$ -Cn lokus ustanovljen je povoljniji utjecaj A<sup>2</sup> alela na količinu ukupnih proteina u odnosu na ostale alele istog lokusa (Lin i sur., 1986; Bech i Kristiansen, 1990; Ng-Kwai-Hang i sur., 1984).

Ukupna količina proteina mlijeka na kraju laktacije za  $\kappa$ -Cn BB statistički je veća od genetske varijante  $\kappa$ -Cn AA (Aleandri i sur., 1990; Ng-Kwai-Hang, 1984; Van Eenennaam i Medrano, 1991), a prva dva autora utvrdila su povoljniji utjecaj A alela u  $\beta$ -Lg lokusu u odnosu na B alel.

### 3. Utjecaj genetskih varijanti proteina mlijeka na sastav mlijeka

Fizikalno-kemijska i tehnološka svojstva te sastav mlječnih proizvoda usko su povezani sa sastavom svježeg mlijeka. Genetski i vanjski činioci, ishrana, stadij i dob laktacije uzrokom su varijabilnosti sastava mlijeka. Prema današnjim saznanjima genske varijante proteina mlijeka dio su genetskih činioca koji značajno utječu na sastav mlijeka.

#### a) Genotip proteina mlijeka i postotak mlječne masti

Mlječna mast izravno utječe na randman maslaca i sira. Morini i sur. (1979) navode 10% bolji randman parmezana, a to pripisuju utjecaju genetskih varijanti na postotak mlječne masti. Izbor genetske varijante s višim postotkom masti u mlijeku značajno može utjecati na isplativost maslarske i sirarske proizvodnje. Najveći utjecaj na postotak mlječne masti u mlijeku utvrđen je za  $\beta$ -Lg lokus. Mlijeko u kojem se nalazi B varijanta  $\beta$ -laktoglobulina bogatije je mlječnom mašću od mlijeka A varijante  $\beta$ -Lg (Aleandri i sur., 1990; McLean i sur.; 1982. i 1984; Ng-Kwai-Hang i sur., 1984, 1986). Munro (1978) konstatira da između BB i BC genotipova  $\alpha_{s1}$ -Cn, genotip BC sadrži veći postotak masti u mlijeku, a Ng-Kwai-Hang i sur. (1986) navode veći postotak masti za BB i BC od AB  $\alpha_{s1}$ -kazeina i BB od AA  $\kappa$ -kazeina. Alel  $\beta$ -Cn A<sup>2</sup> mnogi autori dovode u vezu s višim postotkom masti u mlijeku (Kiddy i sur., 1970; McLean i sur., 1982; Ng-Kwai-Hang i sur. 1984). Nasuprot tome, nekoliko autora (Buchberger i sur., 1982; McLean i sur., 1984; Munro, 1978; Ng-Kwai-Hang i sur., 1986) viši postotak masti u mlijeku vezuju uz druge alele.

#### b) Genotip proteina mlijeka i suha tvar

Količina suhe i bezmasne suhe tvari vezana je na djelovanje  $\beta$ -kazeina i  $\beta$ -laktoglobulina (Arave i sur., 1971; Gonyon i sur., 1987; McLean i sur., 1982, 1984). Veći postotak suhe i bezmasne suhe tvari utvrđen je za A  $\beta$ -Lg varijantu (Arave i sur., 1971), a McLean i sur. (1982 i 1984) navode više suhe tvari u mlijeku BB i AB  $\beta$ -Lg varijante.

#### c) Genotip proteina mlijeka i protein u mlijeku

Protein u mlijeku svakako je njegov najznačajniji sastojak. Sposobnost sirovog mlijeka za preradu izravno ovisi o sastavu masti i proteina, od kojeg 80% čini kazein. Fizikalno kemijska svojstva mlijeka tako su zapravo povezana s kazeinskim kompleksom. Gotovo svi topivi sastojci mlijeka i mlječni lipidi povezani su s kazeinom, što daje još veći značaj kazeinu, odnosno proteinu mlijeka. Važnost proteina u mlijeku razlog su velikom broju istraživanja. Tako je istraživana veza između genotipa proteina mlijeka i kazeinskog broja, količine kazeina, količine sirutkinog proteina, količine pojedinih kazeinskih frakcija, količine  $\alpha$ -laktalbumina i količine  $\beta$ -laktoglobulina.

Povezanost  $\kappa$ -kazeina BB i  $\beta$ -laktoglobulina AA s većom koncentracijom proteina u mlijeku utvrdio je Ng-Kwai-Hang (1984), a dobiveni rezultati potakli su ga na daljnja istraživanja. Analizom sastava mlijeka nekoliko laktacija: protein, kazein, kazeinski broj i sirutkin protein Ng-Kwai-Hang i sur.

(1986) navode slijedeće rezultate: mlijeko krava BB i BC  $\alpha_{s1}$ -Cn varijante sadrži više kazeina, a manje proteina sirutke u odnosu na mlijeko  $\alpha_{s1}$ -Cn AB krava. Posljedično tome, kazeinski broj u mlijeku  $\alpha_{s1}$ -Cn BC varijante je za 2,09 jedinica veći od AB genotipa. Između  $\beta$ -kazeinskih varijanti A<sup>1</sup>B varijanta pokazuje veći postotak kazeina i proteina u mlijeku. Postotak proteina i kazeinski broj vezani su za BB  $\kappa$ -kazeinsku varijantu. Ukupna količina proteina sirutke veća je u mlijeku  $\beta$ -Lg AA varijante, a istovremeno kazein i kazeinski broj signifikantno su veći u mlijeku BB u odnosu na AA genotip  $\beta$ -laktoglobulina.

Isti autori navode postojanje veze između genetskog polimorfizma proteina mlijeka i količine pojedinih kazeinskih frakcija unutar kazeinske micle i ostalih proteina koji se nalaze u mlijeku. Koncentracija  $\alpha_{s1}$ -kazeina (BC > BB > AB). Utjecaj  $\alpha_{s1}$ -kazeina vezan je i za koncentraciju  $\beta$ -laktoglobulina (AB > BB > BC). Varijanta B  $\beta$ -kazeina u odnosu na varijante A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup> ili A<sup>3</sup> povezana je s nižom koncentracijom  $\alpha_s$ -kazeina,  $\beta$ -laktoglobulina, imunoglobulina i višom koncentracijom  $\beta$ -kazeina i  $\alpha$ -laktoalbumina. Mlijeko krava s BB  $\kappa$ -kazeinskim i BB  $\beta$ -laktoglobulinskim genotipom sadrži više  $\alpha_s$ -kazeina i  $\kappa$ -kazeina, a manje  $\beta$ -laktoglobulina u usporedbi s mlijekom krava AA genotipova (Ng-Kwai-Hang i sur. 1987). McLean i sur. 1984. našli su signifikantne razlike između  $\beta$ -laktoglobulinskih varijanti te koncentracije kazeina (B, AB > A), sirutkinih proteina (A > AB > B) i  $\beta$ -laktoglobulina (A > AB, AC > B > BC). Signifikantni utjecaj na sastav kazeina utvrđen je za  $\alpha_{s1}$ -kazein i  $\kappa$ -kazein. Varijanta  $\alpha_{s1}$ -kazein BC u odnosu na BB daje veće učešće  $\alpha_{s1}$ -kazeina. Varijanta BB  $\alpha_{s1}$ -kazeina sadrži veću količinu  $\kappa$ -kazeina u odnosu na BC varijantu  $\alpha_{s1}$ -kazeina. Koncentracija i proporcija  $\beta$ -kazeina uvjetovana je djelovanjem  $\beta$ -kazeinskih varijanti. Varijanta  $\beta$ -kazeina utječe na koncentraciju i omjer  $\beta$ -kazeina (A<sup>1</sup>B, A<sup>2</sup>B > A<sup>1</sup>, A<sup>1</sup>A<sup>2</sup>, A<sup>2</sup> i B),  $\alpha_{s1}$ -kazeina (A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup> > B) i  $\kappa$ -kazeina (B > A<sup>2</sup>), ali i na koncentraciju sirutkinih proteina (A<sup>1</sup> nadmašuje ostale  $\beta$ -kazeinske varijante). U istom istraživanju utvrđeno je da genetske varijante  $\kappa$ -kazeina utječu na koncentraciju i omjer  $\kappa$ -kazeina (B > AB > A) i  $\alpha_{s1}$ -kazeina (A > AB > B), koncentraciju  $\beta$ -laktoglobulina (A > AB, B) i  $\alpha$ -laktoalbumina (A, AB > B).

Utjecaj  $\beta$ -laktoglobulinskih varijanti na postotak kazeina i kazeinski broj utvrdili su Schaar i sur. 1985. Postotak kazeina i kazeinski broj najniži je u  $\beta$ -Lg AA mlijeku, najviši u  $\beta$ -Lg BB mlijeku, a intermedijaran u heterozigota. Genotip BC  $\alpha_{s1}$ -kazeina i BB  $\kappa$ -kazeina u odnosu na druge genotipove najviše je utjecao na postotak proteina u mlijeku (Aleandri i sur., 1990).

### Zaključak

Navedeni pregled rezultata istraživanja utjecaja polimorfizma proteina mlijeka na količinu i sastav navodi na slijedeće zaključke:

- Veća količina mlijeka, masti i proteina vezana je na genotip  $\alpha_{s1}$ -Cn BB  $\beta$ -Cn A<sup>2</sup>A<sup>2</sup> i  $\beta$ -Lg AA
- Najveći postotak masti vezan je na  $\alpha_{s1}$ -Cn BC,  $\kappa$ -Cn BB i  $\beta$ -Lg BB, proteina na  $\alpha_{s1}$ -Cn BC,  $\beta$ -Cn A<sup>1</sup>B,  $\kappa$ -Cn BB i  $\beta$ -Lg AA, a sirutkinih proteina na  $\alpha_{s1}$ -Cn AB,  $\beta$ -Cn A<sup>1</sup>A<sup>1</sup> i  $\beta$ -Lg AA.
- Veći postotak kazeina vezan je na genotipove  $\alpha_{s1}$ -Cn BB, BC,  $\beta$ -Cn A<sup>1</sup>B,  $\kappa$ -Cn BB i  $\beta$ -Lg BB, a povoljniji kazeinski broj propisuje se  $\kappa$ -Cn BB i  $\beta$ -Lg BB.

Polimorfizam proteina mlijeka je interesantan budući da pruža mogućnost selekcije ne samo na količinu i sastav već i na tehnološki značajne osobine mlijeka. Napredak je moguće postići samo uz uvažavanje utjecaja pojedinih alela, odgovornih za sintezu proteina mlijeka, u postojećim uzgojnim programima baziranim na selekciji osobina kontroliranih velikim brojem gena. Frekvencija određenih alela u populaciji i vezano nasljeđivanje gena odgovornih za stvaranje kazeinske micelle utječu na takvu selekciju.

#### MILK PROTEINS POLYMORPHISM AS REGARDS MILK PRODUCTION AND COMPOSITION

##### Summary

Research on milk protein polymorphism of certain authors is presented. Influence of different genotypes  $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ -,  $\kappa$ -caseins and  $\beta$ -lactoglobulin are connected with milk, fat and protein yield, percentage and proportion of milk constituents.

Report review is relative to genetic variants of milk proteins able to alter milk quality and its processing characteristics. Considering gene frequency and linkage this should lead to consequences in breeding policy.

##### Literatura

- ALEANDRI, R., BUTTAZZONI, L. G. SCHNEIDER, J. C., CAROLI, A., DAVOLI, R. (1990): The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. *Journal of Dairy Science* **73**, 241—255.
- ARAVE, C. W., LAMB, R. C., HINES, H. C. (1971): Blood and milk protein polymorphisms in relation to feed efficiency and production traits of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **54**, 106—112.
- ASCHAFFENBURG, R., DREWRY, J. (1955): Occurrence of different beta-lactoglobulins in cow's milk. *Nature* **176**, 218—219.
- BECH, A. M., KRISTIANSEN, K. R. (1990): Milk protein polymorphism in Danish dairy cattle and the influence of genetic variants on milk yield. *Journal of Dairy Research* **57**, 53—62.
- BELL, K., HOPPER, K. E., MCKENZIE, H. A. (1981): Bovine  $\alpha$ -lactalbumin C and  $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ - and  $\kappa$ -caseins of Bali (Banteng) cattle, *Bos (Bibos) javanicus*. *Australian Journal of Biological Sciences* **34**, 149—159.
- BUCHBERGER, J., KIERMEIER, F., KIRCHMEIER, O., GRAML, R., PIRCHNER, F. (1982): Einfluss der Genetischen Varianten der Milchproteine auf die Milchezusammensetzung. International Dairy Congress Moskow I (1) 40—41.
- CAVALLI-SFORZA, L. L., BODMER (1971): The Genetics of Human Populations WH Freeman, San Francisco.
- EIGEL, W. N., BUTLER, J. E. ERNSTROM, C. A., FARRELL, H. M., HARWALKER, V. R., JENNESS, R., WHITNEY, R. McL. (1984): Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *Journal of Dairy Science* **67**, 1599—1631.
- ERHARDT, G. (1989): K-Kaseine in Rindermilch-Nachweis eines weiteren Allels ( $\kappa$ -CN<sup>E</sup>) in verschiedenen Rassen. *J. Anim. Breed. Genet.* **106**; 225—231.
- GONYON, D. S., MATHER, R. E., HINES, H. C., HAENLEIN, G. F. W., ARAVE, C. W., GAUNT, S. N. (1987): Association of Bovine Blood and Milk Polymorphisms with Lactation Traits: Holsteins. *Journal of Dairy Science* **70**; 2585—2598.

- GROSCLAUDE, F. (1988): Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. *INRA Prod. Anim.*, **1**, 5—17.
- HINES, H. C., KIDDY, C. A., BRUM, E. W., ARAVE, C. W. (1969): Linkage among cattle blood and milk polymorphisms. *Genetics* **62**; 401—412.
- KIDDY, C. A., ROSEMARY, E., McCANN, E., WILSON, R. L. (1970): Production characteristics of cows of different milk protein genetic types. 18th International Dairy Congress, Sydney IE 486.
- LIN, C. Y., McALLISTER, A. J., NG-KWAI-HANG, K. F., HAYES, J. F., BATRA, T. R., LEE, A. J., ROY, G. L., VESELY, J. A., WAUTHY, J. M., WINTER, K. A. (1989): Relationships of milk protein types to lifetime performance. *Journal of Dairy Science* **72**; 3085—3095.
- LIN, C. Y., McALLISTER, A. J., NG-KWAI-HANG, K. F., HAYES, J. F. (1986): Effect of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **69**, 704—712.
- 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.
- McLEAN, D. M., GRAHAM, E. R. B., PONZONI, R. W., McKENZIE, H. A. (1982): Association between milk protein genotypes and milk yield and composition. 21th International Dairy Congress, Moscow I (2) 221.
- MEYER, F., ERHARDT, G., FAILING, K., SENFT, B. (1990): Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen Milchleistung, Eutergesundheit, Milchprotein- und Blutproteinpolymorphismen bei Rindern. *Zuchtungskunde*, **62**; 3—14.
- MORINI, D., LOSI, G., CASTAGNETTI, G. B., MARIANI, P. (1979): Properties of ripened cheese in cheesemaking experiments with milk characterized by  $\kappa$ -casein variants A and B. *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. 20th International Dairy Congress. Paris E 10.
- 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): Relationship between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Frisian cows. *Journal of Dairy Science* **69**, 22—26.
- NG-KWAI-HANG, K. F., HAYES, J. F., MOXLEY, J. E., MONARDES, H. G. (1987): Variation in Milk Protein Concentrations Associated with Genetic Polymorphism and Environmental Factors. *Journal of Dairy Science* **70**, 563—570.
- SCHAAR, J., HANSSON, B., PETERSSON, H. E., (1985): Effects of genetic variants of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -laktoglobulin on cheesemaking. *Journal of Dairy Research* **52**, 429—437.
- VAN EENENNAAM, A., MEDRANO, J. F. (1991): Milk protein polymorphisms in California dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **74**, 1730—1742.
- THREADGILL, D. W., WOMACK, J. E. (1990): Genomic analysis of major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Research* **18**; 6935—6942.