

POLIMORFIZAM PROTEINA MLIJEKA U GOVEDA

Jasmina Lukač-Havranek, I. Čurik, Dubravka Samaržija, N. Antunac, M. Posavi

Sažetak

Otkrićem novih tehnika (DNA-hibridizacija-RFLP, PCR, HPLC, imunološke metode koje se služe monoklonskim antitijelima, 2 dimenzionalnom elektroforezom, itd...) moguće je utvrditi postojanje, do danas nepoznatih, genetskih varijanti i tako proširiti naše znanje o polimorfizmu proteina mlijeka. Razvoj elektroforetskih metoda povećava efikasnost, smanjuje cijenu određivanja genetskih varijanti i na taj način daje mnogobrojne mogućnosti da se teoretsko znanje o polimorfnosti iskoristi u stočarstvu. U ovom radu sistematizirani su podaci o genetskim varijantama proteina mlijeka u goveda:

- ukratko je opisana biološka funkcija proteina koji pokazuju polimorfnost
- dat je prikaz otkrića, do danas poznatih, genetskih varijanti
- prikazana je primarna struktura po jedne genetske varijante za svaku frakciju kazeina, alfa-laktoglobulina i beta-laktoglobulina te njihova veza (razlike u aminokiselinama) s ostalim genetskim varijantama.
- prikazani su mogući filogenetski odnosi genetskih varijanti
- iz literature su sakupljeni, tabelarno prikazani i razmatrani podaci o frekvencijama genetskih varijanti

Polimorfizam genetskih varijanti proteina mlijeka moguće je u stočarstvu višestruko iskoristiti što nas obavezuje na određivanje genetskih varijanti proteina mlijeka za goveda Hrvatske.

Uvod

Za otkriće genetskog polimorfizma u goveda zahvaljujemo pojavi i razvoju elektroforetskih tehnika (91). U novije vrijeme, nove tehnike DNA-hibridizacija-RFLP (52, 83), PCR (80, 77, 98), imunološke tehnike koje se služe monoklonskim antitijelima (86), pružaju dodatno znanje o genetskom polimorfizmu u goveda. Polimorfizam proteina mlijeka goveda, pored krvnih grupa, proteina i enzima krvi, daje veliku potencijalnu mogućnost upotrebe u stočarstvu. Moguća primjena polimorfizma u stočarstvu uključuje: određivanje genetskih udaljenosti između pojedinih pasmina (39), filogenetske karakteristike pasmina (9, 47), stupanj varijabilnosti (86), zaštitu autorskih prava uzgajatelja (86), dokazivanje pedigreea (86). Kako određeni polimorfi utječu i na proizvodne karakteristike goveda (4, 82), primjena

Doc. dr. Jasmina Lukač-Havranek, dipl. inž. Ino Čurik, dipl. inž. Dubravka Samaržija, mr. Neven Antunac - Zavod za mljekarstvo; mr. Marijan Posavi - Zavod za specijalno stočarstvo Agronomskog fakulteta, Zagreb

polimorfizma značajna je i za poboljšanje tih karakteristika (88, 86, 88). Takav utjecaj određenog polimorfa tumači se kao mogući pleiotropni učinak, heterosis učinak ili vezanost pojedinih alela s kvantitativnim genima značajnim za izraženost proizvodnih karakteristika (18). Pojedini polimorfi mogu biti smješteni na istom kromosomu kao i geni koji određuju predispoziciju za određene bolesti, što je značajno za veterinarsku medicinu (74). Znanje o polimorfizmu moguće je iskoristiti i u istraživanjima vezanim za strukturu, funkciju i svojstva proteina za koje je utvrđena polimorfnost (68), a nije zanemariva ni mogućnost uvođenja strukturnih i modificiranih gena u genomu goveda kako bi se proizveli radikalno drugačiji proizvodi, npr. nove vrste sireva (54, 53). Alelomorfi se mnogo primjenjuju i kao marker geni u mapiranju genoma goveda (93).

Svrha ovog preglednog članka je sakupiti i sistematizirati znanje o polimorfizmu proteina mlijeka goveda u odnosu na primarnu strukturu pojedinih frakcija, biokemijske razlike, moguće filogenetske odnose, način nasljeđivanja, distribuciju i do danas poznate genetske varijante proteina mlijeka u goveda.

Općenito o proteinima mlijeka koji pokazuju polimorfizam

Komponente mlijeka koje sadrže dušik (N) dijele se na frakciju čistih proteina, kojih u mlijeku ima oko 3.2% i neproteinsku dušičnatu frakciju (NPN) koja u naših pasmina goveda iznosi 0.1- 0.2%. Glavne grupe proteina kravljeg mlijeka su alfas1-Cn, alfas2- Cn, beta-Cn, k-Cn, alfa-laktalbumini, beta-laktoglobulini, serum albumin i imunoglobulini IgG1, IgG2, IgA i IgM. Od proteina najzastupljeniji su kazeini koji čine 80% ukupnih proteina, a u mlijeku se nalaze u obliku kazeinskih micela različitih veličina. Za mlade životinje kazein predstavlja izvor dušika (N) i bitnih aminokiselina potrebnih u njihovom razvoju. Isto tako kazein na sebe veže visoke koncentracije Ca i P koje su potrebne za normalno odvijanje osteosinteze u mladim životinja (17).

Proteini sirutke zaostaju otopljeni u mliječnom serumu ili sirutki nakon precipitacije kazeina kod vrijednosti pH 4.6 i temperature 20°C (34). U grupu proteina sirutke svrstavamo alfa-laktalbumin, beta-laktoglobulin, serum albumin, imunoglobuline i proteaze peptona. Za razliku od kazeina, alfa-laktalbumin i beta-laktoglobulin se nalaze u globularnom obliku, što ih čini otpornim na djelovanje proteinaza. Uloga alfa-laktalbumina je regulacija aktivnosti galaktozil transferaze u mliječnoj žlijezdi, enzima značajnog u sintezi laktoze (33, 55). Smatra se da je beta-laktoglobulin retinol-vezani protein koji u mladim životinja olakšava apsorpciju vitamina A (78, 79). Imunoglobulini i serum albumin dolaze u mlijeko iz krvi, a njihov polimorfizam najčešće razmatramo u sklopu polimorfizma proteina krvi pa u daljnjem tekstu neće biti obrađivani.

Genetičke varijante tj. polimorfi svakog homolognog proteina označavaju se velikim latinskim slovom i to nakon oznake za određenu frakciju npr. alfas1-Cn A. Veliko latinsko slovo ne treba upotrijebiti za sve varijante koje pokazuju različito elektroforetsko kretanje, već za one genetičke varijante za koje je dokazano da se razlikuju samo u jednoj ili nekoliko amino kiselina od osnovnog polipeptidnog lanca (34).

a) *alfas1-kazein (alfas1-Cn)*

Danas je poznato pet različitih genetskih varijanti alfas1-kazeina: A, D, B, C i (E). Znamo da A, B, C i D varijantu kontroliraju 4 alela istog autosomalnog lokusa s djelovanjem bez dominacije pa fenotipovi odgovaraju genotipovima, tj. A (A/A), AB (A/B), B (B/B), AC (A/C), itd... (64).

Za otkriće polimorfizma alfas1-kazeina zaslužni su Thompson i sur. (1962.) (92) koji su otkrili postojanje A i B varijante, a u suradnji s Aschaffenburgom i C varijantu alfas1-kazeina (92), (56). Postojanje D varijante otkrili su Grosclaude i sur. (1966.) (40) u pasmini Flamande. Varijanta E pronađena je u predjelima Nepala u mlijeku jaka (*Bos grunniens*) (43). Otkrića genetskih varijanti alfas1-kazeina prikazana su na tablici 1.

Tab. 1 - PREGLED OTKRIĆA POJEDINIH VARIJANTI ALFAS1-KAZEINA

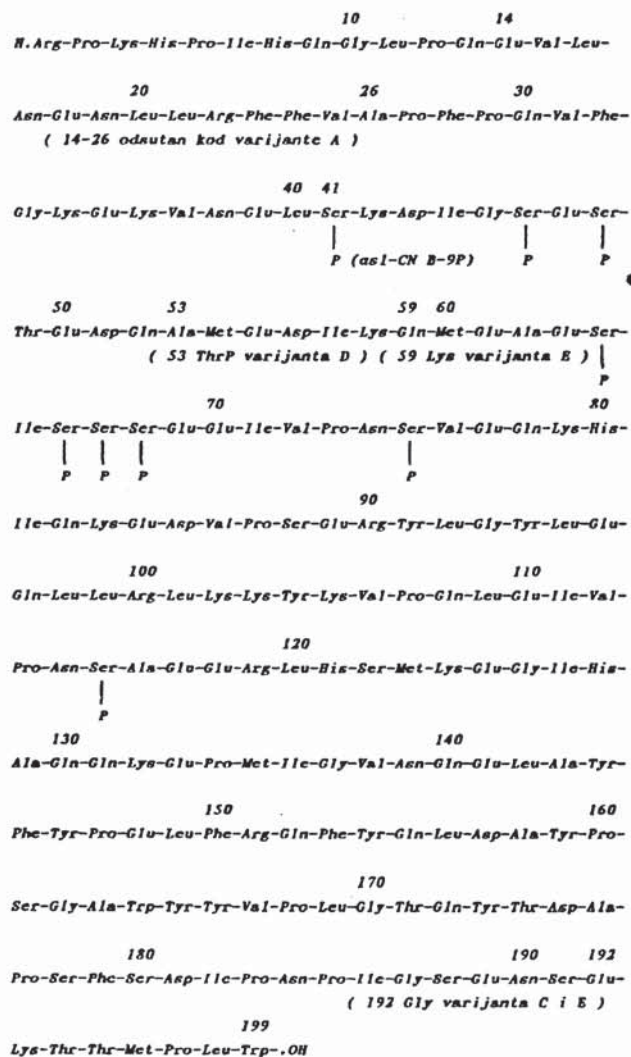
Varijanta	Godina otkrića	Izvor	Pasmina
A	1962	92	Holstein (S. A. D.)
		92	R. D. M. (Danska crvena)
B	1962	92	Zapadnoevropske pasmine
C	1962	92	Zebu (India)
D	1966	40	Flamande (Francuska)
E	1976	43	Jak

Osnovna varijanta evropskih pasmina alfas1-Cn B sastoji se od 199 aminokiselina, njenu primarnu strukturu prvi su odredili Mercier i sur. (1971.) (73), a njena primarna struktura prikazana je na shemi 1.

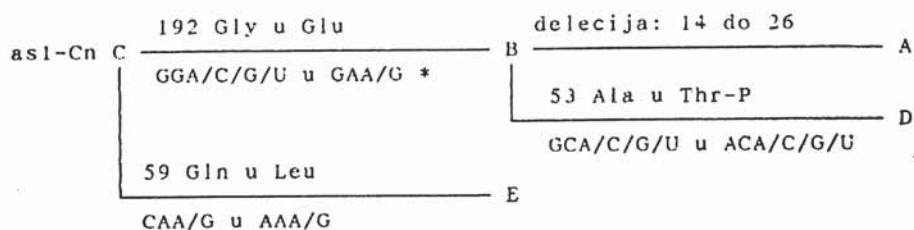
Razlike između pojedinih varijanti očituju se u supstituciji određenih aminokiselina, kao posljedice mutacije strukturnih gena izazvanih zamjenom jednog nukleotida. Iznimka je varijanta A za koju je karakterističan nedostatak 13 aminokiselina uzrokovan kromosomskom mutacijom tj. delecijom (gubitak jednog dijela kromosoma). Biokemijske razlike između genetskih varijanti alfas1-kazeina prikazane su na shemi 1.

Postoji pretpostavka da je varijanta alfas1-Cn C nastala prvobitno, a da su sve ostale varijante nastale iz C varijante kao posljedica evolucije (47). Na shemi 2 prikazan je mogući filogenetski nastanak genetskih varijanti alfas1-kazeina.

Shema 1. - PRIMARNA STRUKTURA ALFAS1-CN B (MERCIER I SUR, 1971.) (73) MODIFICIRANO -PRILOŽENI *P* PREDSTAVLJAJU POLOŽAJE FOSFORILACIJE.



Shema 2. - FILOGENETSKI ODNOSI ZA ALFAS1-KAZEINSKE VARIJANTE. (GROSCLAUDE, 1988., MODIFICIRANO)



* Mogući mRNA kodoni za aminokiseline različitih genetskih varijanti, a na ovoj tablici nalaze se ispod crte koja pretstavlja filogenetsku povezanost određenih varijanti.

Frekvencija gena tj. raspored pojedinih genetskih varijanti razlikuje se od pasmine do pasmine i dok se neke varijante pretežno pojavljuju u svim pasminama, postoje varijante koje se pojavljuju rijetko, a karakteristične su samo za određene pasmine. Na tablici 2 prikazane su frekvencije alela kontroliranih alfas1-Cn lokusom.

Tab. 2. - FREKVENCIJA GENA ODGOVORNIH ZA SINTEZU ALFAS1-KAZEINA.

Pasmina	Godina	Zemlja	BT	Izvor	Frekvencija B	Frekvencija C	Ostali
Crvenošara (Abondance)	1985.	Francuska	127	47	0.78	0.22	
Flamandska (Flamande)	1971.	Francuska	298	47	0.80	0.12	D=0.08
Holštajn (Holstein)	1967.	Francuska	281	47	0.97	0.03	A<0,01
Holštajn (Holstein)	1968.	SAD	>400	94	0.91	0.05	A=0.04
Holštajn (Holstein)	1990.	SAD	1152	94	0.99	0.01	
Holštajn (Holstein)	1984.	Kanada	1687	76	0.97	0.03	A=0.003
Jersey	1984.	Australija	308	71	0.63	0.38	
Jersey	1966.	Danska	142	9	0.95	0.05	
Jersey	1985.	Danska	157	10	0.70	0.30	
Jersey	1968.	SAD	387	94	0.77	0.23	
Jersey	1990.	SAD	172	94	0.68	0.32	
Guernsey	1968.	SAD	>200	94	0.65	0.35	
Guernsey	1974.	SAD	5819	99	0.74	0.26	
Guernsey	1989.	SAD	40	94	0.88	0.12	
Smeđa (Brown Swiss)	1970.	SAD	>259	94	0.98	0.02	
Smeđa (Brown Swiss)	1990.	SAD	50	94	0.86	0.14	

Jasmina Lukač-Havrancik i sur.: Polimorfizam proteina mlijeka u goveda

Pasmina	Godina	Zemlja	BT	Izvor	Frekvencija B	Frekvencija C	Ostali
Crvena danska (RDM)	1966.	Danska	282	9	0.98	0.01	A=0.005
Crvena danska (RDM)	1985.	Danska	169	10	0.99	0.00	A-C=0.003
Danska crnošara (SDM)	1966.	Danska	118	9	1.00	0.00	C=0.004
Danska crnošara (SDM)	1985.	Danska	223	10	0.97	0.03	
Frizijska (Friesian)	1984.	Australija	260	71	0.96	0.04	
Simentalac (Česke strakate)	1967.	Čes. i Sl.	611	65	0.86	0.14	
Simentalac (Česke strakate)	1983.	Češ. i Sl.	337	65	0.91	0.09	
Crvenošara furlanska (PRF)	1985.	Italija	200	30	0.91	0.09	
Crvenobijela (NCB)	1987.	Poljska	82	63	0.96	0.04	
Simentalac (Magyartarka)	1964.	Mađarska	151	9	0.93	0.07	
Simentalac (Simentalska)	1986.	Poljska	77	62	0.95	0.05	
Buša	1964.	Jugoslavija	28	9	0.79	0.21	
Crvenobijela (NCB)	1986.	Poljska	229	62	0.93	0.07	
Siva (Grigio Alpina)	1979.	Italija	172	32	0.74	0.26	
Crvenošara (Rotbunte)	1989.	Njemačka	2510	61	0.90	0.10	
Simentalac (Fleckvieh)	1989.	Njemačka	1706	61	0.90	0.10	
Frizijska (Friesian)	1989.	Njemačka	5793	61	0.98	0.02	A=0.001
Crvena njemačka (Angler)	1989.	Njemačka	273	61	0.99	0.01	
Smeđa (Braunvieh)	1989.	Njemačka	290	61	0.94	0.06	
Crnošara (Pie noire)	1990.	Belgija	215	61	0.98	0.02	
Crvenošara (Pie rouge)	1990.	Belgija	207	61	0.94	0.06	
Plavobijela (Bleu Blanc Bel)	1990.	Belgija	215	61	0.96	0.04	

Pasmina	Godina	Zemlja	BT	Izvor	Frekvencija B	Frekvencija C	Ostali
Bijelocrvena (Blanc rouge)	1990.	Belgija	193	61	0.92	0.08	
Baladi	1986.	Egipat	70	110	0.56	0.44	
Zebu:							
Africander	1966.	JAR	38	9	0.01	0.99	
Ngoni	1966.	JAR	60	9	0.86	0.14	
Tharaparkar	1968.	Indija	71	9	0.05	0.95	
Desi	1968.	Indija	56	9	0.06	0.94	
Hariana	1968.	Indija	72	9	0.21	0.79	

Varijanta A alfas1-Cn vrlo je rijetka, a najčešće je nalazimo u Holstein pasmini. Smatra se da je za prisutnost ove varijante najzaslužnija jedna krvna linija porijeklom iz Michigan-a (56).

U ekonomski značajnim pasminama najzastupljenije su dvije varijante, varijanta B čiji je alel pretežno zastupljen s frekvencijom od oko 70-99% i varijanta C čiji alel dopunjuje frekvenciju alela B do 100%. Velika zastupljenost varijante C vezana je za indijske pasmine, koje se u Europi ekonomski ne iskorištavaju, a velika je razlika u frekvencijama ovih pasmina u odnosu na europske.

Karakteristična za neke francuske i talijanske pasmine, varijanta D pojavljuje se u vrlo niskim frekvencijama (47).

b) alfas2-kazein (alfas2-Cn)

Polimorfizam alfas2-kazeina očituje se u 4 varijante: A, B, C i D. Dokazano je da dva alela na autosomalnom lokusu kontroliraju varijante A i D, a odnos tih alela je intermedijaran tj. kodominantan (46).

Otkriće primarne strukture alfas2-kazeina (23, 24) uzrokovalo je određene promjene u nomenklaturi proteina mlijeka. Druge komponente proteina mlijeka, prije klasificirane kao alfas3-, alfas4-, alfas5 i alfas6, klasificirane su po novoj klasifikaciji kao alfas2-kazein, a smatra se da se razlikuju samo u stupnju fosforilacije (34).

Grosclaude i sur. (44) otkrili su postojanje A, B i C varijante alfas2-kazeina, a dvije godine kasnije i varijantu D. Otkrića genetskih varijanti alfas2-kazeina prikazana su na tablici 3.

Tab. 3 - PREGLED OTKRIĆA GENETSKIH VARIJANTI ALFAS2-KAZEINA.

Varijanta	Godina	Izvor	Pasmina
A	1976.	44	Bos taurus & indicus (Nepal)
B	1976.	44	Bos grunniens (Nepal)
C	1976.	44	Vosigiene (Francuska)
D	1978.	45	Montbeliarde (Francuska)

Najučestalija varijanta alfas2-Cn A sastoji se od 207 aminokiselina (23, 24), a njena primarna struktura nalazi se na shemi 3

Shema 3. - PRIMARNA STRUKTURA ALFAS2-CN A (BRIGNON I SUR. (1966. I 1967.) (23, 24), MODIFICIRANO). DIO AMINOKISELINA KOJI JE PRILOŽEN U ZAGRADAMA PREDSTAVLJA MOGUĆI DIO AMINOKISELINA VARIJANTE D, A KOJI NEDOSTAJE. POKUSOM JE UTVRĐENO 11 FOSFORILIRANIH SERINSKIH OSTATAKA, A OVDJE SU PRIKAZANI SA *P* (24).

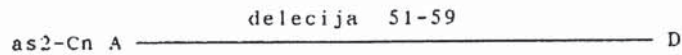


* Pomoću cDNA kodiranja utvrđeno je da se na mjestu 87 polipeptidnog lanca alfas2-Cn umjesto ranije navedene Glu nalazi Gln aminokiselina (90).

Varijanta D razlikuje se od varijante A po nedostatku kisclog nonapeptida koji se sastoji i od tri fosforilirana ostatka. Do sada nije bilo moguće točno utvrditi kojih devet aminokiselina nedostaje, međutim, danas se zna da je to nedostatak aminokiselina od 51-59. mjesta u polipeptidnom lancu (61) na tablici 4.

Razlika između A i D varijante nastala je uslijed kromosomske mutacije (delecija). Biokemijske razlike i filogenetski odnos između A i D genetske varijante, prikazan je na shemi 4.

Shema 4. - BIOKEMIJSKE RAZLIKE I FILOGENETSKI ODNOSI ZA ALFAS2- KAZEINSKE VARIJANTE. GROSCLAUDE, 1988., MODIFICIRANO PREMA (61).



U europskim pasminama pretežno je zastupljena varijanta A koja je gotovo monomorfná, a izuzetak čini varijanta D otkrivena u francuskoj pasmini Vosgienne i Montbeliarde. Ostale varijante otkrivene su, do sada, samo u zebu i jak goveda (47). Pregled frekvencija prikazan je na tablici 5, a broj prikazanih frekvencija ograničen je činjenicom da je u mnogim pasminama utvrđena 100% zastupljenost genetske varijante A, koju mnogi autori u svojim radovima nisu prikazivali.

Tab. 5 - FREKVENCIJA GENA ODGOVORNIH ZA SINTEZU ALFAS2-KAZEINA.

Pasmina	Godina	Zemlja	BT	Izvor	Frekvencija		Ostali
					A	D	
Abondance	1985.	Francuska	127	47	1		
Normande	1972.	Francuska	318	47	1		
Montbeliarde	1976.	Francuska	646	47	0,99	0,01	
Vosgienne	1975.	Francuska	246	47	0,91	0,09	

c) beta-kazein (beta-Cn)

Spominje se 12 genetskih varijanti beta-kazcina: A1, A2, A3, A3 Mongolie, A4, A', B, B2, Bz, C, D i E. U alkalnom gelu koji sadrži ureu, migracija ide ovim redom A1 = A2 = A3 > B > D, E > C, a u kiselom mediju C > B = D > A1 = E > A2 > A3 (59). Pet alela istog lokusa kontroliraju pet varijanti beta-kazcina (A1, A2, A3, B i C) (64).

Već 1961. Aschaffenburg (7) je elektroforezom u lužnatom gelu otkrio postojanje A, B i C varijante beta-kazcina. Pet godina kasnije K i d d y i sur. (1966.) (57) otkrili su, elektroforezom u kiselom mediju, da varijantu A čine tri varijante. Kako su ove tri varijante do tada svrstavane u varijantu A, odlučeno je da se označavaju kao A1, A2 i A3 varijante. U istraživanju genetskih varijanti zebu goveda otkrivena je D varijanta (8). Voglino je 1972. (95) pronašao E varijantu beta-kazcina.

U frakciji beta-kazcina postoji određen broj varijanti čija primarna struktura

(redosljed aminokiselina u polipeptidnom lancu) nije određena, što dovodi njihovo postojanje u sumnju i one se u službenoj nomenklaturi ne navode ili se samo spominju. Smatra se da je potrebno još dokaznog materijala da bi se ove varijante prihvatile u nomenklaturi. *A b e* i sur. (1975.) (1) prijavili su A' varijantu, a *Grosclaude* i sur. (1982. citat 47) A3 Mongolije varijantu. Kod banteg goveda (*Bos javanicus*) primijećeno je postojanje varijante A4, koja pokazuje nešto manju mobilnost u kiselim uvjetima u odnosu na varijantu A3 (13). *Creamer* i *Richardson* (1975.) registrirali su novu varijantu, koju su imenovali B2 (27). U nomenklaturi navedena Bz varijanta otkrivena je samo kod zebu goveda (8), no njeno postojanje dovedeno je u sumnju (34). Otkrića genetskih varijanti beta-kazeina za koje je poznata primarna struktura prikazana su na tablici 6.

Tablica 6. PREGLED OTKRIĆA POJEDINIHI VARIJANTI BETA-KAZEINA (BETA- Cn)

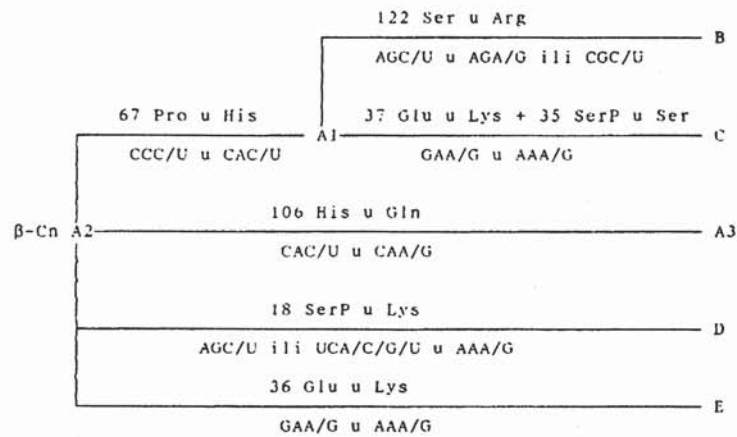
	Varijanta	Godina	Izvor	Pasmina
β -Cn	A	1961.	7	(tada A = A1, A2, A3
	A1	1966.	57	Holstein (S. A. D.) Frisian (V. B.) Normande (Francuska)
	A2	1966.	57	Holstein (S. A. D.) Frisian (V. B.) Normande (Francuska)
	A3	1966.	57	Holstein (S. A. D.) Frisian (V. B.) Normande (Francuska)
	B	1961.	7	Jersey i Gernsey (V. B.)
	C	1961.	7	Gernsey (V. B.)
	D	1968.	8	Deshis (India) Borans (Kenija)
	E	1972.	95	Piedmont (Italija)

Primarnu strukturu beta-kazeina, poredak od 204 aminokiselina u polipeptidnom lancu, razjasnili su *Ribadeau* i sur. (41, 81), a ona je prikazana na shemi 5.

Razlike između pojedinih genetskih varijanti nastale su aminokiselinskom supstitucijom uslijed mutacija strukturnih gena. Zanimljivo je da zamjena Glu u Lys na mjestu 37 u polipeptidnom lancu kojom je nastala varijanta C uzrokuje i odsutnost fosfora kod Ser na mjestu 35 u polipeptidnom lancu. Biokemijske razlike između genetskih varijanti beta-kazeina prikazane su na shemi 5.

Varijanta A2 smatra se "divljim tipom" iz kojeg su nastale sve ostale varijante. Mogući filogenetski odnosi između genetskih varijanti beta-kazeina nalaze se na shemi 6.

Shema 6. - MOGUĆI FILOGENETSKI ODNOSI GENETSKIH VARIJANTI BETA- KAZEINA. (GROSCLAUDE, 1988., MODIFICIRANO)



Općenito, ne samo kod pasmina koje se intenzivno ekonomski iskorištavaju već i kod rjedih pasmina i zebu goveda, najučestalije su A1 i A2 varijante. Iako rijetko zastupljena, a i tada u niskoj frekvenciji (do 5%), varijanta A3 pojavljuje se u određenom broju pasmina širom svijeta (9, 47). U većini pasmina varijanta B zastupljena je u niskoj frekvenciji, a najznačajnije iznimke su Jersey, Normande, Brown Swiss (tablica 8) te neke planinske pasmine zapadne Europe (47). Pretežno u istim pasminama nalazimo varijantu C, uz napomenu, da je ova varijanta prisutna u Guernsey goveda, a nema je u Jersey goveda dok je B varijanta visoko zastupljena kod Jersey-a, a vrlo nisko kod Guernsey-a. Varijantu D nalazimo rijetko, i to samo u zebu goveda (8, 9), dok je varijanta E registrirana kod Piedmont-a gdje se pojavljuje u niskoj frekvenciji (95). Postojanje ostalih varijanti je pod upitnikom, a osim toga sve one zastupljene su u niskim frekvencijama pasmina u kojima su uočene. Prikaz frekvencija genetskih varijanti beta-kazeina nalazi se na tablici 8.

Tab. 8 - FREKVENCIJA GENA ODGOVORNIH ZA SINTEZU BETA-KAZEINA

Pasmina	Go-dina	Frekvencija			A1	A2	B	C	Ostali
		Zemlja	BT	Izvor					
Crvenošara (Abondance)	1985.	Francuska	127	47	0.12	0.79	0.07	0.02	
Bijelocrvena (Flamande)	1971.	Francuska	298	47	0.41	0.53	0.06		
Crnošara (Breton P. N.)	1985.	Francuska	83	47	0.31	0.55	0.04	0.10	
Normandjska (Normande)	1972.	Francuska	318	47	0.19	0.29	0.47	0.01	A3=0.04
Holštajn (Holstein)	1967.	Francuska	281	47	0.53	0.45	0.01		A3=0.01
Holštajn (Holstein)	1967.	SAD	754	56	0.31	0.62	0.02		A3=0.05
Holštajn (Holstein)	1984.	Kanada	1687	76	0.56	0.42			A3=0.01
Holštajn (Holstein)	1990.	SAD	1152	94	0.43	0.55	0.02		
Jersey	1968.	SAD	387	56	0.22	0.49	0.29		
Jersey	1990.	SAD	172	94	0.17	0.50	0.33		
Jersey	1985.	Danska	157	10	0.07	0.58	0.35		
Jersey	1984.	Australija	308	71	0.07	0.56	0.36		
Guernsey	1968.	SAD	200+	56	0.01	0.97	0.01		
Guernsey	1989.	SAD	40	94	0.96		0.04		
Smeđa (Brown Swiss)	1990.	SAD	50	94	0.18	0.66	0.16		
Frizijska (Friesian)	1984.	Australija	260	71	0.63	0.35	0.03		A3=0.004
Crvena danska (RDM)	1985.	Danska	169	10	0.71	0.23	0.06		
Danska crnošara (SDM)	1985.	Danska	223	10	0.55	0.39	0.03		A3=0.03
Crvenošara furlanska (PRF)	1985.	Italija	200	30	0.24	0.66	0.07	0.03	
Crnošara (Schwarzbunte)	1990.	Njemačka	614	74	0.54	0.36	0.10		A3=0.004
Crvenošara (Rotbunte)	1989.	Njemačka	2510	61	0.63	0.23			A3=0.07
Simentalac (Fleckvieh)	1989.	Njemačka	1706	61	0.30	0.59	0.09	0.02	A3=0.01
Frizijska (Friesian)	1989.	Njemačka	5793	61	0.54	0.40	0.06		A3=0.01

Nastavak tablice 8 na slijedećoj strani

Pasma	Go-dina	Frekvencija			A1	A2	B	C	Ostali
		Zemlja	BT	Izvor					
Crvena njemačka (Angler)	1989.	Njemačka	273	61	0.67	0.20	0.13		
Smeđa (Brauvieh)	1989.	Njemačka	290	61	0.14	0.65	0.19	0.02	
Crnošara (Pie noire)	1990.	Belgija	215	61	0.51	0.42	0.06	A3=0.01	
Crvenošara (Pie rouge)	1990.	Belgija	207	61	0.65	0.27	0.04	A3=0.04	
Plavobijela (Bleu Blanc Bel)	1990.	Belgija	215	61	0.44	0.46	0.09	A3=0.02	
Bijelocrvena (Blanc rouge)	1990.	Belgija	196	61	0.28	0.74	0.04	A3=0.01	

d) k-kazein (k-Cn)

Za k-kazein poznate su četiri genetske varijante i to A, B, C i E. Varijante A, B, C i E nasljeđuju se kao autosomalni aleli s intermedijarnom ekspresijom (32, 35).

Schmidt (1964.) (85), Neelin (1964.) (75) i Woychik (1964.) (96, 97) upozorili su na postojanje A i B varijante k-kazcina. O prisustvu C varijante pisali su Di Stasio i Merlin (32), Mariani (1983.) (66), Seibert (1987.) (84), Erhardt (1989.) (35) i Snoj (1992.) (87). Međutim, istraživanja koja će utvrditi biokemijsku razliku ove varijante od ostalih varijanti nisu još završena. Erhardt i Senft (1989.) (36) spominju prisutnost E varijante, a Schlieben i sur. (1991.) (83) utvrdili su razliku ove varijante od A i B varijante na biokemijskoj razini. Otkrića genetskih varijanti k-kazcina nalaze se na tablici 9.

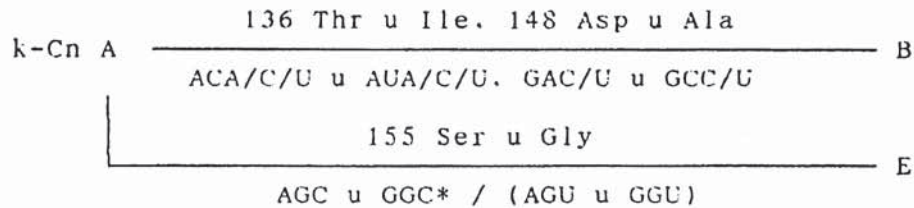
Tab. 9 - PREGLED OTKRIĆA POJEDINIHI VARIJANTI K-KAZEINA

Varijanta	Godina otkrića	Izvor	Pasma
A	1964.	85	Frisian, MRIJ, Holstein
		96	Hol, Gue, Jer, BWS, Ayr
B	1964.	85	Frisian, Holstein
		96	Hol, Gue, Jer, BWS, Ayr
C	1979.	31	Tiroler Grauvieh
E	1987.	36	GRP, GBP i Angeln

Stvarne strukture minornih komponenti k-kazcina, koje uz glavnu komponentu k-kazeina pripadaju kazeinskoj porodici, nisu još poznate (34).

Primarnu strukturu k-kazeina ustanovili su Mercier i sur. (1973.) (72), sastoji se od 169 aminokiselina, a prikazana je na shemi 7.

Shema 8 - MOGUĆI FILOGENETSKI ODNOSI GENETSKIH VARIJANTI K-KAZEINA, (GROSCLAUDE 1988., MODIFICIRANO).



* Ovu razliku dokazali su Schlieben i sur. (83)

Od dvije varijante, prisutne u svim pasminama, varijanta A je zastupljena u višoj frekvenciji nego varijanta B, no postoje i izuzeci od ovog pravila kao što su Jersey, Normande, Brown Swiss-USA itd., pasmine kod kojih je B varijanta zastupljenija. Varijante C i E zastupljene su u niskim frekvencijama u nekim njemačkim, slovenskim i talijanskim pasminama (35, 31, 32, 87). Zanimljivo je da do sada, varijanta C nije otkrivena kod iste pasmine gdje i varijanta E, što je vjerojatno posljedica evolucije (35). Distribucija genetskih varijanti k-kazeina prikazana je na tablici 11.

Tab. 11 - FREKVENCIJA GENA ODGOVORNIH ZA SINTEZU K-KAZEINA.

Pasmina	Godina	Frekvencija			A	B	C	E
		Zemlja	BT	Izvor				
Crvenošara (Abondance)	1985.	Francuska	127	47	0.56	0.44		
Normandijska (Normande)	1972.	Francuska	318	47	0.34	0.66		
Crnobijela (Vosgienne)	1975.	Francuska	246	47	0.48	0.52		
Holštajn (Holstein)	1970.	SAD	+494	94	0.75	0.25		
Holštajn (Holstein)	1984.	Kanada	1687	76	0.74	0.26		
Holštajn (Holstein)	1990.	SAD	1152	94	0.82	0.18		
Jersey	1970.	SAD	+270	94	0.12	0.88		
Jersey	1990.	SAD	172	94	0.14	0.86		
Jersey	1966.	Danska	142	9	0.52	0.48		
Jersey	1985.	Danska	157	10	0.31	0.69		
Jersey	1984.	Australija	308	71	0.23	0.77		
Guernsey	1970.	SAD	+260	94	0.59	0.41		
Guernsey	1989.	SAD	40	94	0.73	0.27		
Smeđa (Brown Sw)	1970.	SAD	+259	94	0.41	0.59		

Nastavak tablice 11 na sljedećoj strani

Jasmina Lukač-Havranec i sur.: Polimorfizam proteina mlijeka u goveda

Pasmina	Godina	Frekvencija			A	B	C	E
		Zemlja	BT	Izvor				
Smeđa (Brown Sw)	1990.	SAD	50	94	0.33	0.67		
Crvena danska (RDM)	1966.	Danska	282	9	0.74	0.26		
Crvena danska (RDM)	1985.	Danska	169	10	0.81	0.19		
Danska crnošara (SDM)	1966.	Danska	118	9	0.68	0.32		
Danska crnošara (SDM)	1985.	Danska	223	10	0.85	0.15		
Frizijska (Friesian)	1984.	Australija	260	71	0.68	0.32		
Crvenošara furlanska (PRF)	1985.	Italija	200	30	0.72	0.28		
Simentalac (Lisasta)	1973.	Slovenija	507	18	0.66	0.34		
Pincgavac	1973.	Slovenija	404	18	0.67	0.33		
Crvenošara (Dt. Rotbunte)	1989.	Njemačka	197	35	0.62	0.35	0.02	
Crnošara (Dt. Schwarzbunte)	1990.	Njemačka	614	74	0.75	0.25		
Crnošara (Dt. Schwarzbuntsee)	1989.	Njemačka	400	35	0.80	0.14	0.06	
Crvena njemačka (Angler)	1989.	Njemačka	273	35	0.64	0.33	0.03	
Simentalac (Fleckvieh)	1989.	Njemačka	378	35	0.76	0.22	0.02	
Smeđa (Braunvieh)	1989.	Njemačka	290	35	0.50	0.48	0.02	
Crvenošara (Rotbunte)	1989.	Njemačka	2501	61	0.72	0.28		
Crnošara (Pie noire)	1990.	Belgija	215	61	0.78	0.19	0.04	
Crvenošara (Pie rouge)	1990.	Belgija	207	61	0.53	0.44	0.03	
Plavobijela (Bleu Blan Bel)	1990.	Belgija	215	61	0.72	0.27	0.01	
Bijelocrvena (Blanc rouge)	1990.	Belgija	196	61	0.90	0.10		
Baladi	1986.	Egipat	70	39	0.62	0.38		

e) Vezanost gena koji uvjetuju ekspresiju kazeinskih frakcija

Na temelju istraživanja vezanih gena Grosclaude i sur. (1973., 1979.) (46, 42) smatraju da se skupina alfas1-, alfas2-, beta- i k- kazein lokusa nalazi na istom kromosomu. Mather (1977.) (67) smatra da su lokusi kazeinskih frakcija smješteni vrlo blizu i da postoji vjerojatnost da se nasljeđuju kao jedan "super gen", a za tako

Tab. 12. - FREKVENCIJE UČESTALIH HAPLOTIPOVA KAZEINSKIH FRAKCIJA ALFAS1-, BETA- I K- GOVEDA KOD NEKIH PASMINA.

Pasma	Zemlja	Izvor	Haplotipovi (procijenjene vrijednosti)										
			BA1A	BA1B	BA2A	BA2B	BBA	BBB	CA2A	CA2B	CA3A		
H-F	Italija	2	0.39	0.17	0.32	0.08	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00
Holstein	SAD	94	0.34	0.08	0.46	0.08	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
Jersey	SAD	94	0.01	0.13	0.07	0.18	0.02	0.27	0.03	0.21	-	-	-
Fiamande	Francuska	47	0.40	0.01	0.31	0.04	0.05	-	0.05	0.07	-	-	-
Holstein	Francuska	47	0.31	0.21	0.37	0.07	-	0.01	0.01	-	0.01	-	0.01
Montbelliarde	Francuska	47	0.10	0.05	0.31	0.24	0.15	0.03	0.06	0.03	-	-	-
Normande	Francuska	47	0.14	0.05	0.14	0.01	0.02	0.45	0.01	0.14	0.04	0.04	0.04
H-F	SAD	50	0.35	0.07	0.38	0.13	0.00	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02

1 npr. BBB predstavlja alfas1-Cn B, beta-Cn B, k-Cn B, itd....

poredane gen lokuse upotrebljava se i termin haplotip ili haploid genotipovi po uzoru na nasljeđivanje HLA sistema kod ljudi (47, 26). Threadgill i Womack (1990.) (93) utvrdili su fizičkim mapiranjem genoma goveda da se "porodica" lokusa kazeinskih frakcija nalazi na 6. kromosomu. Na tablici 12 nalaze se frekvencije haplotipa alfas1- beta-k-kazeina.

Kod pasmina Hol-Frisien, Holstein i Flamande najzastupljeniji je haplotip BA1A s frekvencijom 31-40% i haplotip BA2A (31-46%) kojije prisutan u visokoj frekvenciji (31%) i kod pasmine Montbeliarde.

Za razliku od prethodnih pasmina, u Jersey i Normande pasmina u većoj frekvenciji zastupljeni su haplotipovi BBB (27% i 45%) i CA2B (21% i 14%) koji se kod drugih pasmina nalaze u niskoj frekvenciji. Grosclaude (1988.) sugerira da je haplotip s kombinacijom alfas1-Cn C, alfas2-Cn A, beta-Cn A2, k-Cn A originalan (47).

f) alfa-laktalbumin (alfa-La)

Protein sirutke alfa-laktalbumin nalazimo u tri genetičke varijante, a znamo da A i B varijante kontroliraju 2 alela istog lokusa s kodominantnom ekspresijom.

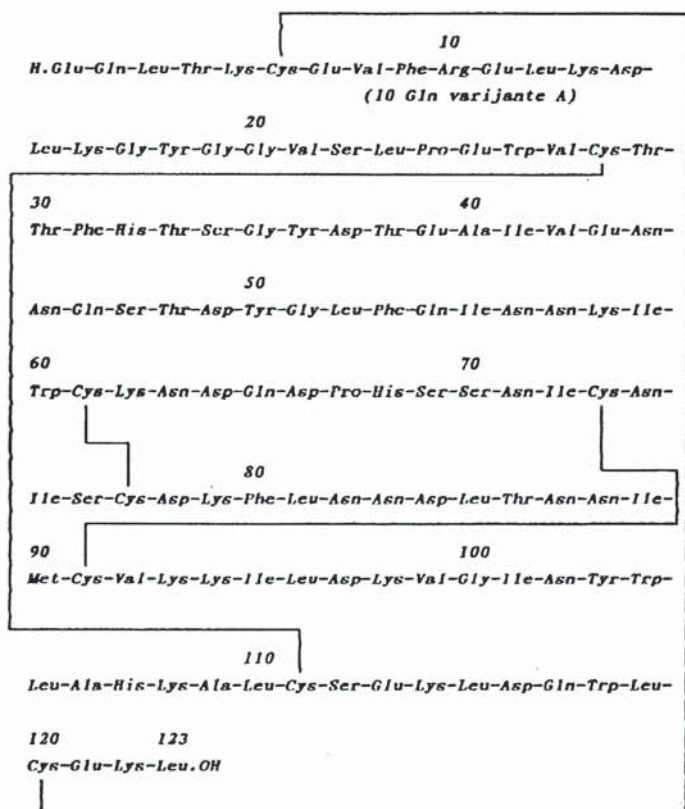
Postojanje dvije varijante, a time i polimorfnost alfa-laktalbumina otkrili su Blumberg i Tombs (1958.) (16) u mlijeku zebu goveda. Bell i sur. (1981.) (12) otkrili su visoku zastupljenost, tada nove, varijante C u bali goveda, Bos javanicus u Australiji. Pregled otkrića genetskih varijanti alfa-laktalbumina nalazi se na tablici 13.

Tab. 13 - PREGLED OTKRIĆA GENETSKIH VARIJANTI ALFA-LAKTALBUMINA

Varijanta	Godina otkrića	Izvor	Pasmina
A	1958.	16	Zebu
B	1958.	16	Zebu
C	1981.	12	Banteg

Redoslijed 123 aminokiseline u polinukleotidnom lancu alfa- laktalbumina odredili su Brew i sur. (1970.) (21, 22), a prikazan je na shemi 9. Postoji sličnost između primarne strukture alfa- laktalbumina i lizozima pa je tridimenzionalan model alfa- laktalbumina načinjen primjenom podataka trodimenzionalne strukture lizozima kokošnjeg bjelanjka (25). Osim glavne strukture, postoji nekoliko minornih komponenti alfa-laktalbumina od kojih su neke glikoproteini (34).

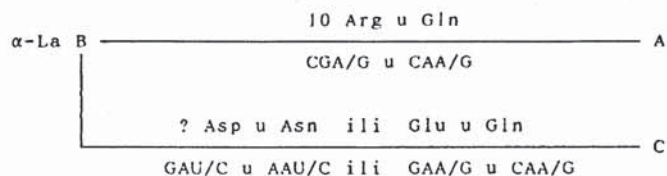
Shema 9 - PRIMARNA STRUKTURA ALFA-LAKTALBUMINA B GOVEDA (21, 22), MODIFICIRANO. DISULFIDNE VEZE OZNAČENE SU CRTOM.



Varijanta B razlikuje se od varijante A po prisutnosti Arg umjesto Gln na 10. mjestu polinukleotidnog lanca, a od varijante C po prisutnosti Asp umjesto Asn ili Glu umjesto Gln (12).

Grosclaude i sur. (1988.) smatraju da je varijanta B vjerojatno filogenetski najstarija (47), a da su iz nje izvedene ostale varijante (shema 10).

Shema 10 - MOGUĆI FILOGENETSKI ODNOSI GENETSKIH VARIJANTI ALFA-LAKTALBUMINA, (GROSCLAUDE 1988., MODIFICIRANO).



Polimorfnost alfa-laktalbumin lokusa najviše je naglašena u zebu goveda gdje se varijanta A pojavljuje u znatnoj frekvenciji, u gir pasmine i do 38% (9). U europskim pasminama varijantu A nalazimo samo u pojedinim pasminama, a i tada u niskoj frekvenciji (47). Varijanta C pronađena je samo u bali goveda, (*Bos javanicus*). Iako je ispitan uzorak mali vjerojatno je da se C varijanta u bali goveda nalazi u visokoj frekvenciji, a kako nema podataka o prisutnosti C varijante u ostalim pasminama, njena prisutnost može se koristiti u arheološkim i genetičkim studijama. Podaci o distribuciji tj. frekvenciji genetskih varijanti alfa-La lokusa nalaze se na tablici 14.

Tab. 14 - FREKVENCIJA GENA ODGOVORNIH ZA SINTEZU ALFA-LA.

Pasmina	Godina	Zemlja	Frekvencija		A	B
			BT	Izvor		
Abondance	1985.	Francuska	127	47	0.00	1.00
Limousine	1973.	Francuska	40	47	0.01	0.99
Vosgiene	1975.	Francuska	246	47	0.01	0.99
Holstein	1984.	Kanada	2906	76	0.00	1.00
Bijela Fulani	1958.	Nigerija	52	16	0.15	0.85
Hariana	1963.	Indija	96	15	0.22	0.78
Baladi	1986.	Egipat	70	39	0.00	1.00

g) *beta-laktoglobulin (beta-Lg)*

Od 10 poznatih genetičkih varijanti beta-laktoglobulina za A, B, C, D, E, F, G i W varijantu određen je redoslijed aminokiselina u polipeptidnom lancu (34, 29, 38), dok primarna struktura za H varijantu nije poznata. Aleli beta-lg nalaze se u istom autosomnom lokusu, a nasljeđuju se kodominantno po Mendelovim zakonima (64). U nekim istraživanjima utvrđeno je vezano nasljeđivanje beta-laktoglobulin lokusa i J sistema krvnih grupa (51, 49).

Otkriće polimorfizma u beta-laktoglobulina, Aschaffenburg i Drewry (1955., 1957.) (5, 6) dokazali su postojanje A i B varijante, prvi je polimorfizam otkriven za proteine mlijeka i na ovo otkriće nadovezala su se daljnja istraživanja genetskih varijanti proteina mlijeka kako u goveda tako i u drugih sisavaca. Proučavajući Jersey pasminu Australije, Bell (11) je otkrio C varijantu, a Bell i sur. (1981.) (14) su u mlijeku bantega i jaka otkrili E, F i G varijantu. Bell i sur. (1970.) (13) izvijestili su o postojanju varijante Dr u mlijeku Droughmastera, (34). U mlijeku francuske pasmine Montbeliarde, Grosclaude i sur. (1966.) (40) pronašli su varijantu D, a Davoli i sur. (1988.) (29) u mlijeku Frisien goveda Italije varijantu D veće elektroforetske mobilnosti od varijante A, koju su nazvali H varijantom, iako njena primarna struktura nije još određena. Krause i sur. (60) uočili su kod rijetke pasmine Murnau-Werdenfelder (populacija ove pasmine broji 200 životinja) novu varijantu koju su imenovali slovom W po imenu pasmine Murnau-Werdenfelder. Kasnije su Godovac-Zimmermann i sur. (1990.) (38) odredili primarnu strukturu varijante W. Pregled otkrića genetskih varijanti beta-laktoglobulina nalazi se na tablici 15.

Tablica 15. - PREGLED OTKRIĆA POJEDINIH VARIJANTI BETA-LAKTOGLOBULINA

Varijanta	Godina	Izvor	Pasmina
A	1955.	5	Shorth,Fri,Ayrs,Gue
B	1955.	5	Shorth,Fri,Ayrs,Gue
C	1962.	11	Jersey (Australija)
D	1966.	40	Montbeliardes (Francuska),Jersey (Danska),Simental (Njemačka,Poljska)
Dr	1970.	13	Droughmaster
E	1976.	43	Jak (Nepal)
F	1981.	14	Banteg,Bibos
G	1981.	14	Banteg,Bibos
H	1988.	29	Friesian (Italija)
W	1988.	60	Murnau-Werdenfelder (Njemačka)

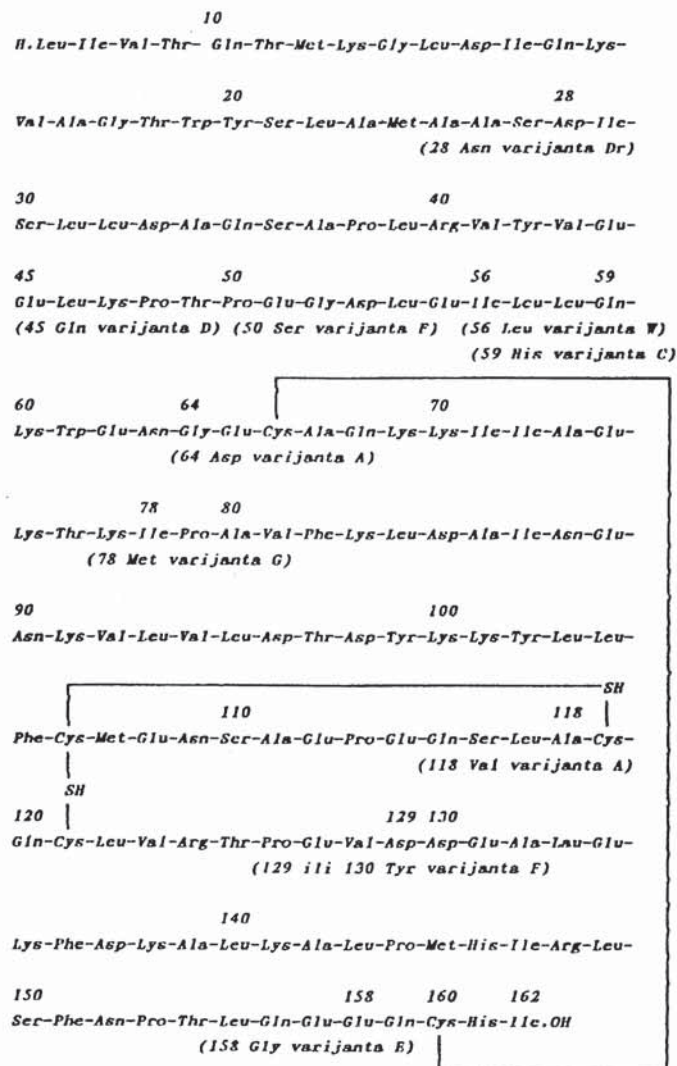
Molekula beta-laktoglobulina, primarna struktura prikazana na shemi 11, sastoji se od 162 aminokiseline (34). Otkriću njene strukture najviše su doprinijeli Braunitzer i sur. (1972.) (19, 20).

Sve genetske varijante u mlijeku nalazimo, u blizini izo-ionske točke (pH 5,2), kao dimere dva nekovalentno vezana polipeptidna lanca od 162 aminokiseline uz ugljikohidratni dio u Droughmaster goveda (14).

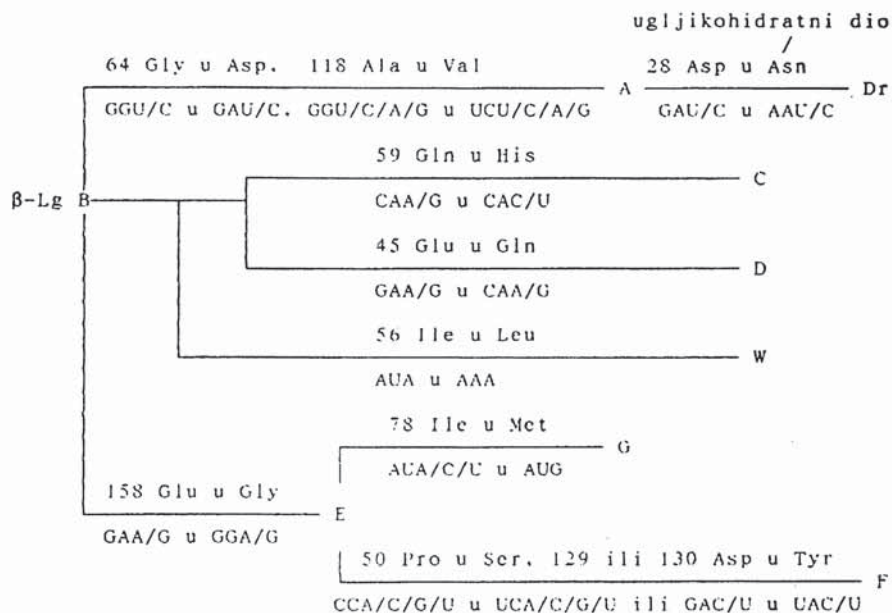
Varijante beta-Lg, za koje je potpuno poznata primarna struktura, razlikuju se u primarnoj strukturi tj. po supstituciji određenog broja aminokiselina, a varijanta Dr je specifična jer se razlikuje od varijante A po tome što na položaju 28 umjesto Asp nalazimo aminokiselinu Asn na koju je vezan ugljikohidratni dio (14). Ugljikohidratni dio vezan na Asn u Droughmaster goveda sastoji se od smjese NeuNAc, GlcNAc, GalNAc, Man i Gal u omjeru 1.0 : 3.4 : 9 : 1.9 : 8, a taj dio utječe na imunološka svojstva Dr varijante (13).

Filogenetski gledano, najveća je vjerojatnost da su sve genetske varijante beta-laktoglobulina nastale iz varijante B (vidi shemu 12).

Shema 11. - PRIMARNA STRUKTURA BETA-LG GOVEDA B (19, 20, 37, 13), MODIFICIRANO. SMJEŠTAJ SH GRUPA I DISULFIDA IZVEDENA JE UZ POMOĆ PROMATRANJA MCKENZE I SUR. (70, 68) NA PRIMARNU STRUKTURU BETA-LG BRAUNITZER I SUR. (19, 20). SMATRA SE DA SH GRUPA POSTOJI U 50% UZORAKA IZMEĐU POZICIJE 119 I 121 SA -SS- VEZOM OVISNO O POZICIJI SH GRUPE.



Shema 12 - MOGUĆI FILOGENETSKI ODNOSI GENETSKIH VARIJANTI BETA- LAKTOGLOBULINA, GROSCLAUDE 1988., MODIFICIRANO.



U većini pasmina prisutna je samo A i B varijanta beta- laktoglobulina i to u frekvencijama koje se, uz neke iznimke, kreću od 0.40-0.60 podjednako u korist A ili B alela. Pojava varijante C, u nižim frekvencijama, karakteristična je za Jersey pasminu (9), dok se varijanta D, također u nižim frekvencijama, pojavljuje u nekim francuskim pasminama (47).

Varijante E, F i G u jak ili banteg govedu nisu pronađene u pasminama koje se ekonomski intenzivno iskorištavaju. U Frisien pasmini u Italiji otkrivena je prisutnost i H varijante, ali u vrlo niskoj frekvenciji (do danas nije još poznata primarna struktura ove varijante). Frekvencije genetskih varijanti beta-laktoglobulina u različitim pasminama nalaze se na tablici 16.

Tab. 16 - FREKVENCIJA GENA ODGOVORNIH ZA SINTEZU BETA- LAKTOGLOBULINA

Pasmina	Godina	Fekvencija			A	B	D	Ostale
		Zemlja	BT	Izvor				
Crvenošara (Abodance)	1985.	Francuska	127	47	0.62	0.37	0.01	
Crvenošara (Montbeliard)	1976.	Francuska	318	47	0.39	0.59	0.02	
Holštajn (Holstein)	1965.	SAD	406	58	0.46	0.54		
Holštajn (Holstein)	1990.	SAD	1152	94	0.43	0.57		
Holštajn (Holstein)	1984.	Kanada	1687	76	0.39	0.61		
Jersey	1985.	Danska	157	10	0.31	0.68		C=0.006
Jersey	1990.	SAD	172	94	0.37	0.63		
Jersey	1984.	AUSL	308	71	0.33	0.57		C=0.11
Guernsey	1965.	SAD	200	58	0.30	0.70		
Guernsey	1974.	SAD	3861	48	0.39	0.61		
Danska crvena (RDM)	1985.	Danska	169	10	0.11	0.89		
Danska crnošara (SDM)	1985.	Danska	223	10	0.54	0.46		
Smeđa (Rjava)	1973.	Slovenija	1136	18	0.54	0.46		
Simentalac (Lisasta)	1973.	Slovenija	507	18	0.51	0.49		
Simentalac (Česke str.)	1983.	Češka i Sl.	339	65	0.52	0.48		
Crvenošara furlanska (PRF)	1985.	Italija	200	30	0.45	0.56		
Frizijska (Friesian)	1984.	Australija	260	71	0.39	0.61		
Crvenošara (Rotbunte)	1989.	Njemačka	2510	61	0.32	0.68		
Simentalac (Fleckvieh)	1989.	Njemačka	1706	61	0.47	0.52	0.01	
Crnošara (Friesian)	1989.	Njemačka	5793	61	0.41	0.59		
Nj. crvena (Angler)	1989.	Njemačka	273	61	0.06	0.86	0.08	
Crnošara (Pie Noire)	1990.	Belgija	215	61	0.43	0.57		
Crvenošara (Pie rouge)	1990.	Belgija	207	61	0.42	0.58		
Plavobijela (Bleu Blan Bel)	1990.	Belgija	215	61	0.37	0.63		
Bijelocrvena (Blanc rouge)	1990.	Belgija	196	61	0.34	0.67		
Murnau-Werdenfelser	1988.	Njemačka	106	60	0.36	0.48	0.08	W=0.08
Baladi	1986.	Egipat	70	39	0.27	0.73		

Zaključak

Aleli koji se pojavljuju u gen lokusima najznačajnijih proteina mlijeka goveda, alfas1-, alfa s2-beta- i k- kazeini, alfalaktalbumini i beta-laktoglobulini polimorfnog su karaktera. Prisutnost određenog broja alela utvrđena je samo u banteg, jak i zebu goveda, a svojstva tih alela nažalost nisu još dovoljno istražena. Polimorfizam nama ekonomski najzanimljivijih pasmina očituje se kao prisutnost različitih genetskih varijanti i to: A, B, C i D za alfas1-Cn lokus, A i D za alfas2-Cn lokus, A1, A2, A3, B i C za beta-Cn lokus, A, B, C, E za k-Cn lokus, A, B za alfa-La lokus i A, B, C, D za beta-Lg lokus.

Genetske varijante proteina mlijeka najčešće se razlikuju u jednoj do tri aminokiseline, a razlike nekih genetskih varijanti uzrokovane su nedostatkom određenih aminokiselina (delecija).

Svi gen lokusi koji kontroliraju sintezu navedenih proteina mlijeka nalaze se na autosomnim kromosomima i nasljeđuju se kodominantno po pravilima Mendelove genetike.

Učestalost tj. frekvencija pojedinih alela razlikuje se od pasmine do pasmine, ali i između pojedinih populacija iste pasmine dok su pojedini aleli karakteristični samo za neke pasmine.

S obzirom na broj genetskih varijanti, frekvenciju, način nasljeđivanja, položaj na kromosomima te efikasnost u određivanju fenotipa, polimorfizam proteina mlijeka goveda predstavlja veliku potencijalnu mogućnost iskorištavanja u stočarstvu.

LITERATURA

1. Abe, T., Komatsu, M., Oishi, T., Kagayama, A. (1975.): Genetic polymorphism of milk proteins in Japanese and European cattle breeds in Japan. *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 46:591-599, (Abstract, 1976., 38, 3082).
2. 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.
3. Alexander, L. J., Stewart, A. F., Mackinlay, A. G., Kapelinskaya, T. V., Tkach, T. M., Gorodetsky, S. I. (1988.): Isolation and characterization of the bovine k-casein gene. *Eur. J. Biochem.* 178:395-401.
4. Antunac, N., Lukač-Havranek, J., Čurik, I., Samaržija, D. (1991.): Polimorfizam proteina mlijeka u odnosu na proizvodnju i sastav mlijeka. *Mljekarstvo* 11:297-302.
5. Aschaffenburg, R., Drewry, J. (1955.): Occurrence of Different Beta-Lactoglobulins in Cow's Milk. *Nature*, London 176:218-219.
6. Aschaffenburg, R., Drewry, J. (1957.): Genetics of the beta-lactoglobulins of cow's milk. *Nature*, London, 180:376-378.
7. Aschaffenburg, R. (1961.): Inherited casein variants in cow's milk. *Nature*, London, 192, 431-432.
8. Aschaffenburg, R., Sen, A., Thompson, M. P. (1968.): Genetic variants of casein in Indian and African zebu cattle. *Comp. Biochem. Physiol.* 25, 177.
9. Aschaffenburg, R. (1968.): Review of the progress of dairy science Section G. Genetics. Genetic variants of milk proteins: their breed distribution. *Journal of Dairy Research* 35:447-460.
10. 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.
11. Bell, K. (1962.): One-Dimensional Starch-Gel Electrophoresis of Bovine Skim-Milk. *Nature*, London, 195:705-706.
12. Bell, K., Hopper, K. E., McKenzie, H. A. (1981.): Bovine alfa-lactoglobulin C and alfas1-, beta- and k-caseins of Bali (Banteg) cattle, *Bos (Bibos) javanicus*. *Aust. J. Biol. Sci.* 34:149-159.

13. Bell, K., McKenzie, H. A., Murphy, W. H., Shaw, D. C. (1970.): beta-lactoglobulin (Droughtmaster): A unique protein variant. *Biochim. Biophys. Acta* 214:427-436.
14. Bell, K., McKenzie, H. A., Shaw, D. C. (1981.): Bovine beta-lactoglobulin E, F and G of Bali (Banteng) cattle, *Bos (Bubalus) javanicus*. *Aust. J. Biol. Sci.* 34:133-147.
15. Bhattacharya, S. D., Roychoudhury, A. K., Sinha, N. K., Sen, A. (1963.): Inherited alpha-Lactalbumin and beta-Lactoglobulin Polymorphism in Indian Zebu Cattle. Comparison of Zebu and Buffalo alpha-Lactalbumins. *Nature, London.* 197:797-799.
16. Blumberg, B. S., Tombs, M. P. (1958.): Possible Polymorphism of Bovine alpha-Lactoglobulin. *Nature, London,* 181, 683-684.
17. Bonsing, J., Mackinlay, A. G. (1987.): Recent studies on nucleotide sequences encoding the caseins. *Journal of Dairy Research* 54:447-461.
18. Böhm, O. (1973.): Blood groups of cattle breeds in Yugoslavia, Final report of the project: "Study of blood groups of cattle breeds in Yugoslavia". Ljubljana.
19. Braunitzer, G., Chen, R. (1972.): Die Spaltung des beta-Lactoglobulins AB mit Bromcyan. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 353:674-676.
20. Braunitzer, G., Chen, R., Schrank, B., Strangl, A. (1972.): Automatische Sequenzanalyse eines Proteins (beta-Lactoglobulins AB). *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 353:832-834.
21. Brew, K., Castellino, F. J., Vanaman, T. C., Hill, R. L. (1970.): The complete amino acid sequence of bovine alpha-lactalbumin. *J. Biol. Chem.* 245:4570.
22. Brew, K., Hill, R. L. (1970.): The isolation and characterization of tryptic, chymotryptic, peptic, and cyanogen bromide peptides from bovine alpha-lactoglobulin. *J. Biol. Chem.* 245:4559.
23. Brignon, G., Ribadeau-Dumas, B., Mercier, J. C. (1976.): Primiers elements de structure primaire des caseines alphas2 bovines. *FEBS Lett.* 71:111.
24. Brignon, G., Ribadeau-Dumas, B., Mercier, J. C., Pelissier, J. P., Das, B. C. (1977.): Complete amino acid sequence of bovine alphas2-casein. *FEBS Lett.* 76:274-279.
25. Brown, W. J., North, A. C. T., Phillips, D. C., Brew, K., Vanaman, T. C., Hill, R. L. (1969.): A possible three-dimensional structure of bovine alpha-lactoglobulin based on the hen's egg-white lysozyme. *J. Mol. Biol.* 42:65-86.
26. Ceppellini, R., Curtoni, E. S., Mattiuz, P. L., Miggiano, V., Scudeller, G., Serra, A. (1967.): Genetics of leukocyte antigens. A family study of segregation and linkage. In E. S. Curtoni, P. L. Mattiuz, and R. M. Tosi, eds. *Histocompatibility Testing, 1967.* Copenhagen:Munksgaard.
27. Creamer, L. K., Richardson, B. C. (1975.): A new genetic variant of beta-casein. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology,* 10:170-171, (Abstract, 1976, 38, 3088).
28. Davoli, R. (1981.): Determinazione delle varianti genetiche delle proteine del latte mediante elettroforesi su acetato di cellulosa. *Riv. Zoot. Vet.,* 9:96.
29. Davoli, R., Dall'Olio, D., Bigi, D. (1988.): Una nuova variante di beta-lattoglobulina nel latte bovino. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia* 39:439-443.
30. Davoli, R., Russo, V., Dall'Olio, S., Fornaciari, M. C. (1985.): Polymorphism of milk proteins of Red Pied cattle raised in Italy. *Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie* 39:371-373
31. Di Stasio, L., Merlin, P. (1979.): A new k-casein variant in cattle. *Proc. XVth International Conference on Animal Blood Groups and biochemical polymorphism, Leningrad,* II, 97-100.
32. Di Stasio, L., Merlin, P. (1979.): Polimorfismo biochimici del latte nella razza bovina Grigio Alpina. *Rivista di Zootecnia e Veterinaria* 2:64-67.
33. Ebner, K. E., Schanbacher, F. (1974.): *Biochemistry of lactose and related carbohydrates.* Strana 77 in *Lactation: a comprehensive treatise.* Vol. II. B. L. Larson and V. R. Smith, ed. Academic Press, New York, NY.
34. 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.
35. Erhardt, G. (1989.): K-Caseine in Rindermilch-Nachweis eines weiteren Allels (k-CnE) in verschiedenen Rassen. *J. Anim. Breed. Genet.* 106:225-231.
36. Erhardt, G., Senft, B. (1989.): Integration of milk protein variants in bovine breeding programs using an economical screening method. *Animal Genetics* 20 (Suppl. 1), 61-62.
37. Frank, V. G., Braunitzer, G. (1967.): Zur Primärstruktur der beta-Lactoglobuline. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 348:1691-1692.

38. Godovac-Zimmermann, J., Krause, I., Buchberger, J., Weiss, G., Klostermeyer, H. (1990.): Genetic Variants of Bovine beta-Lactoglobulin: A Novel Wild-type beta-Lactoglobulin W and its Primary Sequence. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 371:255-260.
39. Graml, R., Ohmayer, G., Pirchner, F., Erhardt, L., Buchberger, J., Mostageer, A. (1986.): Biochemical polymorphism in Egyptian Baladi cattle and their relationship with other breeds. *Animal Genetics*, 17:61-76.
40. Grosclaude, F., Pujolle, J., Ribadeau-Dumas, B. (1966.): Evidence for 2 additional variants in proteins of cow's milk: alfas1-casein D and beta-lactoglobulin D. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.* 6. 215-222.
41. Grosclaude, F., Mahe, M. F., Ribadeau-Dumas, B. (1973.): Structure primaire de la caseine alfas1, et de la caseine B bovine. *Eur. J. Biochem.* 40:323-324.
42. Grosclaude, F., Mercier, J. C., Dumas, B. R. (1973.): Genetic aspects of cattle casein research. *Neth. Milk Dairy J.* 27:328-340.
43. Grosclaude, F., Mahe, M. F., Mercier, J. C., Bonnemaire, J., Teisseir, J. H. (1976.): Polymorphisme des lactoprotéines de Bovines Népalais. I. Mise en évidence, chez le Yak, et caractérisation biochimique de deux nouveaux variants: beta-lactoglobuline D (yak) et caseine alfas1-E. *Ann. Genet. Sel. Anim.* 8:461.
44. Grosclaude, F., Mahe, M. F., Mercier, J. C., Bonnemaire, J., Teisseir, J. H. (1976.): Polymorphisme des lactoprotéines de Bovines Népalais. II. Polymorphisme des caseines (as-mineures): Le locus alfas2-Cn est-il lié aux loci alfas-Cn, in k-Cn? *Ann. Genet. Sel. Anim.* 8:481.
45. Grosclaude, F., Joudrier, P., Mahe, M. F. (1978.): Polymorphisme de la caseine alfas2-Cn avec les loci alfas1-Cn, beta-Cn et k-Cn; mise en évidence d'une déletion dans le variant alfas2-Cn D. *Ann. Genet. Sel. Anim.* 10:313.
46. Grosclaude, F., Joudrier, Ph., Mahe, M. F. (1979.): A genetic and biochemical analysis of a polymorphism of bovine alfas2-casein. *J. Dairy Res.* 46:211-213.
47. Grosclaude, F. (1988.): Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. *INRA Prod. Anim.*, 1:5-17.
48. Haenlein, G. F. W., Gonyon, D. S., Mather, R. E., Hines, H. C. (1987.): Association of Bovine Blood and Milk Polymorphisms with Lactation Traits: Guernseys. *J. Dairy Sci.* 67:1599-1631.
49. Hines, H. C., Kiddy, C. A., Brum, E. W., Arave, C. W. (1969.): Linkage among cattle blood and milk polymorphisms. *Genetics* 62:401-412.
50. Hins, H. C., Haenlein, G. F. W., Zikakis, J. P., Dickey, H. C. (1977.): Blood Antigen, Serum protein, and Milk Protein Gene Frequencies and Genetic Interrelationships in Holstein Cattle. *J. Dairy Sci.* 47:147-151.
51. Hines, H. C., Zikakis, J. P., Haenlein, G. F. W., Kiddy, C. A., Trowbridge, C. L. (1981.): Linkage Relationships Among Loci of Polymorphisms in Blood and Milk of Cattle. *J. Dairy Sci.* 64:71-76.
52. Jodot, M., Laloux, J., Burny, A., Kettmann, R. (1992.): Detection of bovine beta-lactoglobulin genomic variants by the polymerase chain reaction method and molecular hybridization. *Animal Genetics*, 23:77-79.
53. Jimenez-Flores, R., Kang, Y. C., Richardson T. (1987.): Cloning and Sequence Analysis of Bovine beta-Casein cDNA. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 142:617-621.
54. Jimenez-Flores, R., Kang, Y. C., Richardson, T. (1988.): Genetic Engineering of the Caseins to Modify the Behavior of Milk During Processing: A Review. *J. Dairy Sci.* 71:2640-2654.
55. Jones, E. A. (1978.): Lactose biosynthesis. Page 371 in *Lactation: a comprehensive treatise*. Vol IV. B. L. Larson, ed. Academic Press. New York.
56. Kiddy, C. A., Johnston, J. O., Thompson, M. P. (1964.): Genetic Polymorphism in Caseins of Cow's Milk. I. Genetic Control of alfa-Casein Variation. *J. Dairy Sci.* 47:147-151.
57. Kiddy, C. A., Peterson, R. F., Kopfler, F. C. (1966.): Genetic control of the variants of beta-casein A. *Journal of Dairy Science* 49:742.
58. Kiddy, C. A., Towend, R. E., Thacher, W. W., Timashef, S. N. (1965.): beta-Lactoglobulin variation in milk from individual cows. *J. Dairy Res.* 32:209-217.
59. Kiddy, C. A. (1975.): Gel electrophoresis in vertical polyacrylamide beds. Procedures I and II. Strana 14 u *Methods of gel electrophoresis of milk proteins*. H. E. Swaisgood, B. L. Larson, E. B. Kalan, J. R. Brunner, C. V. Morr, P. M. T. Hansen, ed. *Am. Dairy Sci. Assoc.*, Champaign, IL.

60. Krause, I., Buchberger, J., Weiss, G., Pflugler, M., Klostermeyer, H. (1988.): Isoelectric focusing in immobilized pH gradients with carrier ampholytes added for high-resolution phenotyping of bovine beta-lactoglobulins: Characterization of a new genetic variant. *Electrophoresis*, 9:609-613.
61. Laloux, J., Erhardt, G. (1990.): Les variants genetiques des lactoproteines dans les races bovines belges. Reflexions sur le taux proteique. *Revue de l'Agriculture*, 43:781-795.
62. Leonard-Kluz, I. A., Gwozdziwicz, A., Cieslar, P., Kolatowa, B., Rey, L., Tomaszkiwicz, A., Wierna, W., Zywczok, H. (1987.): Milk protein polymorphism and performance traits of Red and White and Simmental cows in several herds in Bielski and Krosnienki districts. *Rocz. Nauk. Zoot. T.* 13, z. 2:17-34.
63. Leonard-Kluz, I. A., Gwozdziwicz, A., Straczewski, M., Tomaszkiwicz, A. (1987.): Milk protein polymorphism in Black-Pied cows in the Experimental Station Kolbacz with regard to their productivity and milk composition. *Rocz. Nauk. Zoot. T.* 12, z. 1:105-122.
64. Lin, C. Y., McAllister, A. J., Ng-Kwai-Hang, K. F., Hayes, J. F. (1986.): Effects of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 69:704-712.
65. Macha, J. (1986.): Genetical Structure of a Bovine Population from the Aspect of Genetical Polymorphism of Protein in Cow's Milk. *Acta univ. agric. (Brno), fac. agron.* XXXIV; 2:253-262.
66. Mariani, P. (1983.): Sulla presenza di una terza k-caseina nel latte di vacche di Razza Bruna. *Scienza e Tecnica Lattiero- Casearia* 34:174-181.
67. Mather, R. E. (1977.): Review of Regional Project NE62: Relationships Between Genetic Markers and Performance in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 60:482-492.
68. McKenzie, H. A. (1967.): Milk proteins. Strana 56-57 u *Advances in protein chemistry*. Vol XXII. C. B. Anfinsen, Jr i sur., ed. Academic Press, New York, NY.
69. McKenzie, H. A. (1971.): beta-lactoglobulin. Strana 257 u *Milk proteins*. Vol II. H. A. McKenzie, ed. Academic Press, New York, NY.
70. McKenzie, H. A., Ralston, G. B., Shaw, D. C. (1972.): Location of sulphhydryl and disulfide groups in bovine beta-lactoglobulins and effects of urea. *Biochemistry* 11:4539.
71. 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.
72. Mercier, J. C., Brignon, G., Ribadeau-Dumas, B. (1973.): Structure primaire de la caseine k B bovine. *Sequence complete. Eur. J. Biochem.* 23:222.
73. Mercier, J. C., Grosclaude, F., Ribadeau-Dumas, B. (1971.): Structure primaire de la caseine afas1- bovine. *Eur. J. Biochem.* 23:41-51.
74. Meyer, F., Erhardt, G., Failing, K., Senft, B. (1990.): Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen Milchleistung, Eutergesundheit, Milchprotein- und Blutproteinpolymorphismen bei Rindern *Zuchtungsunde*, 62:3-14.
75. Neelin, J. M. (1964.): Variants of k-casein revealed by improved starch gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science* 47:506-509.
76. 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.
77. Ng-Kwai-Hang, K. F., Zadworny, D., Hayes, J. F., Kuhlein, U. (1991.): Identification of k-Casein genotype in Holstein Sires: A Comparison Between Analysis of Milk Samples from Daughters and Direct Analysis of Semen Samples from Sires by Polymerase Chain Reaction. *Journal of Dairy Science* 74:2410-2415.
78. Papiz, M. Z., Sawyer, L., Eliopoulos, E. E., North, A. C. T., Findlay, J. B. C., Sivaprasadarao, R., Jones, T. A., Newcomer, M. E., Kraulis, P. J. (1986.): The structure of beta-lactoglobulin and its similarity to plasma retinol-binding protein. *Nature*, 324:383-385.
79. Pervaiz, S., Brew, K. (1985.): Homology of beta-Lactoglobulin, Serum Retinol-Binding Protein, and Protein HC. *Science* 228:335-337.
80. Pinder, S. J., Perry, B. N., Skidmore, C. J., Savva, D. (1991.): Analysis of polymorphism in the bovine casein genes by use of the polymerase chain reaction. *Animal Genetics*, 22 11-20.
81. Ribadeau-Dumas, B., Brignon, G., Grosclaude, F., Mercier, J. C. (1972.): Structure primaire de la casein B bovine. *Eur. J. Biochem.* 25:505-514.
82. Samaržija, D., Lukač-Havranek, J., Čurik, I., Antunac, N. (1991.): Polimorfizam

- proteina mlijeka u proizvodnji sira. *Mljekarstvo* 12:319-327.
83. Schlieben, S., Erhardt, G., Senft, B. (1991.): Genotyping of bovine k-casein (k-CNA, k-CNB, k-CNC, k-CNE) following DNA sequence amplification and direct sequencing of k-CNE PCR produkt. *Animal Genetics* 22:333-342.
 84. Seibert, B., Erhardt, G., Senft, B. (1987.): Detection of new k-casein variant in cow's milk. *Anim. Genetics* 18, 269-272.
 85. Schmidt, D. G. (1964.): Starch-gel electrophoresis of k- casein. *Biochem. biophys. Acta* 90:411-414.
 86. Smith, C., Simpson, S. P. (1986.): The use of genetic polymorphisms in livestock improvement. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 103:105-117.
 87. Snój, A., Međugorac, I., Rogelj, I., Dovč, P., Graml, R. (1991.): Utjecaj genetskih varijanti kapa kazeina na koagulacijska svojstva mlijeka. *Mljekarstvo* 11:303-307.
 88. Soller, M., Beckmann, J. S. (1983.): Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet.* 67:25-33.
 89. Stewart, A. F., Bonsinnig, J., Beattie, C. W., Shah, F., Willis, I. M., Mackinlay, A. G. (1987.): Complete Nucleotide Sequences of Bovine alfas2- and beta-Casein cDNAs: Comparison with Related Sequences in Other Species. *Mol. Biol. Evol.* 4:231-241.
 90. Thompson, M. P. (1970.): Phenotyping Milk Proteins: A Review. *Journal of Dairy Science* 53:1341-1348.
 91. Thompson, M. P., Kiddy, C. A., Pepper, L., Zittle, C. A. (1962.): Variations in the alfas-Casein Fraction of Individual Cow's Milk. *Nature, London.* 195:1001-1002.
 92. Threadgill, D. W., and Womack, J. E. (1990.): Genomic analysis of the major bovine milk genes. *Nucleic Acid Res.* 18:6935-6942.
 93. Van Eenennaam, A., Medrano, J. F. (1991): Milk protein polymorphisms in California dairy cattle *Journal of Dairy Science* 74:1730-1742.
 94. Voglino, G. F. (1972.): A new beta-casein variant in Piedmont cattle. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 3:61-62.
 95. Woychik, J. H. (1964.): Polymorphism in k-casein of cow's milk. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 16:267-271.
 96. Woychik, J. H. (1965.): Phenotyping of k-casein. *Journal of Dairy Science* 48:496-497.
 97. Zadzorny, D., Kuhnlein, U. (1990.): The identification of the kappa-casein genotype in Holstein dairy cattle using the polymerase chain reaction. *Theor. Appl. Genet.*, 80:631-634.
 98. Zikakis, J. P., Haenlein, G. F. W., Hines, H. C., Mather, R. E., Tung, S. (1973.): Gene Frequencies of Electrophoretically Determined Polymorphisms in Guernsey Blood and Milk. *J. Dairy Sci.* 57:405-410.

POLYMORPHISM OF BOVINE MILK PROTEINS

Summary

Recently developed techniques (DNA-hybridisation-RFPL, PCR, HPLC, improved imunological techniques using monoclonal antibodies and 2 dimensional gel electrophoresis etc.) make it possible to detect higher percentage structural loci being polymorphic. Development of electrophoretic techniques enables quick phenotyping and as its consequence, application of milk protein polymorphism becomes more realistic. In this paper we have tried to review some aspects of milk protein polymorphism in cattle:

- biological function of polymorphic milk proteins in cattle is briefly described
- there is a list of genetic variants established so far
- prime structure is given for each case in fraction, alfa- actalbumin and beta-lactoglobulin and its relationship(aminoacid differences) with other genetic variants
- possible phylogenetic relations among genetic variants are presented
- gene frequency data scattered through literature are presented in the form of tables

Cattle milk proteins as polymorphic variants can be widely applied in livestock improvement and dairy processing so phenotyping milk protein variants in the cattle of Croatian is a matter of urgency.

Primljeno: 15. 8. 1992.