

# Identificazione di una nuova variante alla $\kappa$ -caseina nella razza caprina Girgentana



R. DI GERLANDO, L. TORTORICI, M.T. SARDINA, G. MONTELEONE, B. PORTOLANO

Dipartimento DEMETRA, Università degli Studi di Palermo

**Parole chiave:** caseina, polimorfismi, capra Girgentana.

**INTRODUZIONE** - I geni delle caseine sono organizzati in un *cluster* che include  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - e  $\kappa$ -caseina, mappato sul cromosoma 6 del genoma caprino. Il polimorfismo genetico delle caseine caprine è noto, ormai da anni, considerando la relazione con la qualità e le proprietà tecnologiche del latte (Martin *et al.*, 2002). La  $\kappa$ -caseina è la lattoproteina che determina la grandezza e la funzione specifica delle micelle nel latte e la sua idrolisi, chimosina dipendente, è responsabile della coagulazione del latte stesso. Il gene della  $\kappa$ -caseina comprende 5 esoni (Coll *et al.*, 1993, 1995), con una regione codificante per la proteina matura di 171 aminoacidi, di cui 9 presenti nell'esone 3 e 162 nell'esone 4 (Yahyaoui *et al.*, 2003). Ad oggi, grazie all'avvento di metodi di analisi del DNA, sono state identificate 16 varianti alleliche, di cui 13 sono varianti proteiche e 3 mutazioni silenti, per un totale di 15 siti polimorfici (Prinzenberg *et al.*, 2005). La razza caprina Girgentana è una delle più importanti razze autoctone caprine da latte allevate in Sicilia. Considerata la ridotta consistenza della razza, che ad oggi conta circa 480 capi allevati in Sicilia (ASSONAPA, 2011), potrebbe essere utile far recuperare un valore economico alla sua produzione di latte sia per il consumo fresco che per la trasformazione in prodotti di nicchia. Lo scopo di questo lavoro è stato la caratterizzazione dell'esone 4 del gene della  $\kappa$ -caseina nella razza caprina Girgentana.

**MATERIALI E METODI** - Un totale di 100 campioni sono stati prelevati casualmente all'interno di differenti allevamenti situati sul territorio siciliano. Il DNA genomico è stato estratto da sangue intero utilizzando un protocollo *salting-out*. Un frammento di 552 bp dell'esone 4 del gene della  $\kappa$ -caseina, è stato amplificato mediante il protocollo di PCR descritto da Prinzenberg *et al.*, 2005. I prodotti di amplificazione sono stati purificati e sequenziati mediante *ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems)*. Le sequenze ottenute sono state analizzate utilizzando il *software SeqScape v2.5 (Applied Biosystems)* e successivamente allineate con il *software Clustal W* contenuto nel pacchetto *BioEdit* (Hall *et al.*, 1999). I siti polimorfici sono stati confermati da un esame visivo degli elettroferogrammi. La traduzione delle sequenze nucleotidiche in aminoacidiche è stata ottenuta utilizzando il *software ExPASy-Translate*. Le frequenze alleliche e genotipiche, e l'equilibrio Hardy-Weinberg sono stati calcolati mediante il *software GENEPOP* (Rousset *et al.*, 2008).

**RISULTATI E DISCUSSIONE** - L'analisi delle sequenze nucleotidiche ha mostrato la presenza, all'interno della razza Girgentana, degli alleli A, B e D, identificati in precedenti lavori e riportati con la nomenclatura definitiva da Prinzenberg *et al.*, 2005. Nei campioni analizzati è stata riscontrata una nuova variante allelica nell'esone 4 del gene della  $\kappa$ -caseina. La nuova variante, provvisoriamente denominata X, è stata riscontrata in 8 individui dei 100 animali genotipizzati. L'allele X differisce dall'allele A (*GenBank* X60763) per 5 *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) situati in posizione 245 T/C, 284 G/A, 309 G/A, 471 G/A e 591 T/C, mentre differisce dall'allele C (*GenBank* AY350425) per una transizione T/C in posizione 583 (Tab. 1). L'analisi della sequenza aminoacidica della variante X rispetto alla variante A ha mostrato, rispettivamente, i seguenti aminoacidi *Tyr*<sub>43</sub>/*Tyr*<sub>43</sub>, *Leu*<sub>56</sub>/*Leu*<sub>56</sub>, *Val*<sub>65</sub>/*Ile*<sub>65</sub>, *Val*<sub>119</sub>/*Ile*<sub>119</sub> e *Ser*<sub>159</sub>/*Pro*<sub>159</sub>. Dal confronto con l'allele C, la variante X mostra solo il cambio *Val*<sub>156</sub>/*Ala*<sub>156</sub>. La Tabella 2 mostra le frequenze alleliche e genotipiche degli individui analizzati. Gli alleli A e B sono risultati i più frequenti con valori rispettivamente di 0,485 e 0,370. L'allele D ha mostrato una frequenza pari a 0,105, mentre la nuova variante allelica X pari a 0,040. A questo *locus* Gigli *et al.* (2008), in individui di razza Girgentana, avevano evidenziato risultati discordanti riscontrando una maggiore frequenza dell'allele B (0,416) rispetto ad A (0,127), ed una frequenza di D pari a 0,083. Il genotipo che si è presentato con maggiore frequenza è stato AB (0,40) seguito da AA (0,20), BB (0,12) e AD (0,11). I restanti genotipi si sono presentati con una frequenza inferiore a 0,10 (Tab. 2). La popolazione è risultata in equilibrio di Hardy-Weinberg mostrando un *P-value* pari a 0,782.

**Tabella 1** - Confronto delle posizioni degli SNPs e delle varianti aminoacidiche (aa) tra la nuova variante X e gli alleli A (X60763) e C (AY350425).

Posizione SNP	A	C	X	Posizione aa	A	C	X
245	T	C	C	43	Tyr	Tyr	Tyr
284	G	A	A	56	Leu	Leu	Leu
309	G	A	A	65	Val	Ile	Ile
471	G	A	A	119	Val	Ile	Ile
583	C	T	C	131	Thr	Thr	Thr
591	T	C	C	156	Ala	Val	Ala
				159	Ser	Pro	Pro

**Tabella 2** - Frequenze alleliche e genotipiche al locus della  $\kappa$ -caseina nella razza caprina Girgentana.

Alleli	Frequenze	Genotipi	Frequenze
A	0,485	AA	0,20
B	0,370	AB	0,40
D	0,105	BB	0,12
X	0,040	AD	0,11
		BD	0,08
		DD	0,01
		AX	0,06
		BX	0,02
		DX	-
		XX	-

**CONCLUSIONI** - Ulteriori analisi saranno effettuate su un più ampio numero di individui al fine di confermare la presenza dello SNP in posizione 583 e di verificare un possibile cambiamento nella struttura della proteina.

*Ringraziamenti:* questo studio è stato finanziato dal PSR Sicilia 2007-2013, Misura 1.2.4, CUPG66D11000039999

## Identification of a new variant of $\kappa$ -casein in Girgentana goat breed

**Key words:**  $\kappa$ -casein, SNPs, Girgentana goat breed.

## Bibliografia

- ASSONAPA (2010), [Online] Available at [http://www.assonapa.it/norme\\_ecc/Consistenze\\_Caprini.htm](http://www.assonapa.it/norme_ecc/Consistenze_Caprini.htm).
- Coll A., Folch J.M., Sanchez A. (1993), *Journal of Animal Science* 71: 2833.
- Coll A., Folch J.M., Sanchez A. (1995), *Journal of Dairy Science* 78: 973-977.
- ExPASy-Translate website <http://expasy.org/>.
- Gigli I., Maizon D.O., Riggio V., Sardina M.T., Portolano B. (2008), *Journal of Dairy Science* 91: 3687-3692.
- Hall, T.A. (1999), *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Martin P., Szymanowska M., Zwierzchowski L., Leroux C. (2002), *Reproduction Nutrition Development* 42: 433-459.
- Prinzenberg E.-M., Gutscher K., Chessa S., Caroli A., Erhardt G. (2005), *Journal of Dairy Science* 88: 1490-1498.
- Rousset F. (2008), *Molecular Ecology Resources* 8: 103-106.
- Yahyaoui M.H., Angiolillo A., Pilla F., Sanchez A., Folch J.M. (2003), *Journal of Dairy Science* 86: 2715-2720.