HAL open science

LOCALISATION DES SUBSTITUTIONS D'ACIDES AMINÉS DIFFÉRENCIANT LES VARIANTS A ET B DE LA CASÉINE x BOVINE

F. Grosclaude, Marie-Françoise Mahé, J.-C. Mercier, B. Ribadeau-Dumas

To cite this version:

F. Grosclaude, Marie-Françoise Mahé, J.-C. Mercier, B. Ribadeau-Dumas. LOCALISATION DES SUBSTITUTIONS D'ACIDES AMINÉS DIFFÉRENCIANT LES VARIANTS A ET B DE LA CASÉINE x BOVINE. Annales de génétique et de sélection animale, 1972, 4 (4), pp.515-521. hal-00892549

HAL Id: hal-00892549

https://hal.science/hal-00892549v1

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Ann. Génét. Sél. anim., 1972, **4** (4), 515-521.

LOCALISATION DES SUBSTITUTIONS D'ACIDES AMINÉS DIFFÉRENCIANT LES VARIANTS A ET B DE LA CASÉINE $\varkappa$ BOVINE

F. GROSCLAUDE, Marie-Françoise MAHÉ, J.-C. MERCIER
et B. RIBADEAU-DUMAS

Laboratoire de Génétique biochimique et Laboratoire de Recherches sur les Protéines,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas

RÉSUMÉ

Comme le suggéraient les résultats de WOYCHIK *et al.* (1966), DE KONING *et al.* (1966) et HILL *et al.* (1970), les caséinomacropeptides des variants A et B de la caséine $\varkappa$ bovine diffèrent par deux substitutions d'acides aminés : Ala ($\varkappa$B) $\rightarrow$ Asp ($\varkappa$A) et Ile ($\varkappa$B) $\rightarrow$ Thr ($\varkappa$A).

Ces substitutions affectent respectivement la 22e et la 34e position à partir de l'extrémité COOH-terminale du caséinomacropeptide, qui est également celle de la caséine $\varkappa$.

D'un point de vue génétique, les deux variants de la caséine $\varkappa$ assurent donc le marquage de la partie terminale du locus $\varkappa$-Cn.

INTRODUCTION

Les techniques d'électrophorèse en gel ont permis de mettre en évidence un polymorphisme génétique au niveau de chacune des trois espèces principales de caséine bovine, les caséines α_{s1}, β et $\varkappa$ (voir les revues bibliographiques d'ASCHAFFENBURG, 1968 et de THOMPSON, 1970). Les quatre variants génétiques de caséine α_{s1}, les cinq variants de caséine β et les deux variants de caséine $\varkappa$ détectés à ce jour chez *Bos taurus* sont déterminés par les allèles des trois loci de structure, α_{s1}-Cn, β-Cn et $\varkappa$-Cn. Ces loci présentent la particularité d'être très étroitement liés, au point que leurs allèles ségrègent comme s'ils formaient une seule unité génétique (GROSCLAUDE *et al.*, 1964, 1965 ; KING *et al.*, 1965 ; LARSEN et THYMANN, 1966).

Nous avons suggéré, dans des publications antérieures (GROSCLAUDE *et al.*, 1966, 1969) que la localisation des mutations correspondant à tous ces variants pouvait contribuer à préciser la disposition relative des trois loci de structure considérés.

Pour localiser ces mutations, il suffit, en vertu du principe de colinéarité entre un gène de structure et la protéine correspondante, de localiser, dans chacune des chaînes polypeptidiques, les altérations propres aux différents variants génétiques.

Nous venons de caractériser de la sorte tous les variants des caséines α_{s1} et β connus à ce jour (GROSCLAUDE *et al.*, 1972).

En ce qui concerne la caséine $\varkappa$, les compositions en acides aminés établies par WOYCHIK *et al.* (1966) montrent que, par rapport à celle du variant $\varkappa$B, la chaîne polypeptidique du variant $\varkappa$A comporte d'une part un résidu alanyle et un résidu isoleucyle en moins, et d'autre part un résidu thréonyle et un résidu aspartyle ou asparaginyle en plus ; WOYCHIK *et al.* ont suggéré que les deux variants différaient par les substitutions Ala → Asp et Ile → Thr, car, dans cette hypothèse, chacune des mutations correspondantes peut n'impliquer que la substitution d'une seule paire de nucléotides. DE KONING *et al.* (1966) ont montré par ailleurs que ces substitutions affectaient le caséinomacropeptide, c'est-à-dire la partie COOH-terminale de la caséine $\varkappa$, ce qui a été confirmé par HILL *et al.* (1970). Le présent travail qui se réfère à la séquence du caséinomacropeptide du variant $\varkappa$B établie par MERCIER *et al.* (1972), précise la localisation des deux substitutions d'acides aminés qui différencient les variants $\varkappa$A et $\varkappa$B.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La caséine $\varkappa$A a été préparée suivant ZITTLE et CUSTER (1963) à partir du lait d'une vache de race *Française Frisonne Pie-Noire*, homozygote pour le complexe génique

$$\alpha_{s1}\text{-Cn}^{B} — \beta\text{-Cn}^{A^2} — \varkappa\text{-Cn}^{A}$$

La fraction dépourvue de glucides, $\varkappa A_1$, a été obtenue par chromatographie de la caséine $\varkappa$A sur DEAE-cellulose en milieu urée et β-mercaptoéthanol (MERCIER *et al.*, 1968). Son homogénéité a été vérifiée par électrophorèse en gel d'amidon selon SCHMIDT (1964).

Les autres techniques utilisées dans ce travail ont toutes été décrites dans nos publications antérieures : électrophorèse et chromatographie sur papier, chromatographie sur colonne de résine Dowex, dosage des acides aminés, dosage du phosphore : GROSCLAUDE *et al.* (1970) ; hydrolyse par la leucine aminopeptidase, par la carboxypeptidase A et par la pepsine, dégradation soustractive d'Edman : MERCIER *et al.* (1970 *a*) ; hydrolyse par le bromure de cyanogène : MERCIER *et al.* (1970 *b*) ; hydrolyse acide ménagée, utilisation de la phosphatase alcaline : MERCIER *et al.* (1971) ; hydrolyse par la thermolysine : RIBADEAU-DUMAS *et al.* (1971) ; utilisation de l'aminopeptidase M : RIBADEAU-DUMAS *et al.* (1972).

L'origine des enzymes et produits utilisés a été donnée par MERCIER *et al.* (1972).

La nomenclature des peptides résultant de l'hydrolyse d'un peptide plus long fait intervenir, dans l'ordre, trois éléments : *a*) la dénomination du peptide de départ, *b*) les initiales du nom de l'enzyme ou du réactif ayant servi à l'hydrolyse (Th = thermolysine ; CN = bromure de cyanogène), *c*) un numéro d'ordre, attribué en fonction du résultat de l'opération de fractionnement effectuée. Le numérotage des peptides se fait dans l'ordre d'élution pour une chromatographie préparative sur colonne, de l'anode vers la cathode pour une électrophorèse préparative sur papier, et dans le sens des mobilités croissantes pour une chromatographie préparative sur papier. Par ailleurs l'appellation d'un peptide comporte, si besoin est, le nom du variant génétique ayant servi à le préparer.

RÉSULTATS

Comme pour l'étude de la séquence du caséinomacropeptide de la caséine $\varkappa$B (MERCIER *et al.*, 1972), nous n'avons pas opéré sur le caséinomacropeptide lui-même mais sur le peptide $\varkappa A_1$CN2, l'un des 3 peptides résultant de l'hydrolyse de la ca-

TABLEAU I

Peptide κA₁CN2	
Composition en acides aminés	*Asx, 5,01(5)* ; *Thr, 11,50(12)* ; Ser, 5,77(6) ; Glx, 10,21(10) ; Pro, 7,64(8) ; Gly, 1,03(1) ; *Ala, 4,85(5)* ; Val, 5,95(6) ; *Ile, 5,61(6)* ; Leu, 1,04(1) ; Lys, 2,80(3) ; P, 0,97(1).
Composition de κB_1CN2 peptide homologue de κB_1 (MERCIER *et al.*, 1972)	*Asx, 3,93(4)* ; *Thr, 10,62(11)* ; Ser, 5,75(6) ; Glx, 10,04(10) ; Pro, 8,16(8) ; Gly, 1,07(1) ; *Ala, 6,03(6)* ; Val, 5,83(6) ; *Ile, 6,60(7)* ; Leu, 0,97(1) ; Lys, 2,87(3) ; P (1).
Peptide κA_1 CN2Th1	
Composition en acides aminés	*Asx, 1,75(2)* ; Thr, 1,09(1) ; Ser, 1,61(2) ; Glx, 4,06(4) ; Pro, 3,03(3) ; Val, 1,00(1) ; Ile, 1,52(2) ; Leu, 1,00(1) ; P*.
Composition de κB_1CN2Th1 peptide homologue de κB_1 (MERCIER *et al.*, 1972)	*Asx, 0,96(1)* ; Thr, 1,01(1) ; Ser, 1,80(2) ; Glx, 4,02(4) ; Pro, 2,94(3) ; *Ala, 1,00(1)* ; Val, 0,73(1) ; Ile, 1,62(2) ; Leu, 1,01(1).
*Peptide κA_1CN2Th1*a	
Composition en acides aminés	Asx, 1,00(1) ; Ser, 0,95(1) ; Glx, 2,08(2) ; Pro, 0,86(1) ; Leu, 0,77(1) ; P*.
Séquence	Leu - Glu - Asp - SerP - Pro - Glu
Edman après déphosphorylation	
Stade 1	Asx, 0,89(1) ; Ser, 1,00(1) ; Glx, 2,10(2) ; Pro, 1,28(1) ; *Leu, 0,23(0)*.
Stade 2	Asx, 0,84(1) ; Ser, 1,00(1) ; *Glx, 1,55(1)* ; Pro, 1,26(1).
Stade 3	*Asx, 0,37(0)* ; Ser, 1,00(1) ; Glx, 1,38(1) ; Pro, 1,12(1).
Stade 4	Asx, 0,28(0) ; *Ser, 0,42(0)* ; Glx, 1,30(1) ; Pro, 0,97(1).
Stade 5	Asx, 0,27(0) ; Ser, 0,40(0) ; Glx, 1,30(1) ; Pro, 0, 70(0-1).
*Peptide κA_1CN2Th$_1$*b	
Composition en acides aminés	Asx, 0,94(1) ; Thr, 0,94(1) ; Ser, 1,09(1) ; Glx, 2,29(2) ; Pro, 2,29(2) ; Val, 0,90(1) ; Ile, 1,52(2).
Peptide κA_1CN2Th2	
Composition en acides aminés	*Thr, 4, 46 (5)* ; Ser, 2, 58 (3) ; Glx, 3, 02 (3) ; Pro, 2, 02 (2) ; Gly, 0, 91 (1) ; Ala, 1, 87 (2) ; Val, 1, 00 (1) ; *Ile, 1, 07 (1)*.
Composition de la séquence homologue de κB_1 (MERCIER *et al.*, 1972)	Thr_4, Ser_3, Glx_3, Pro_2, Gly, Ala_2, Val, Ile_2.
Peptide κA_1CN2Th2P1	
Composition en acides aminés	Thr, 3, 29 (4) ; Ser, 1, 58 (2) ; Glx, 1, 85 (2) ; Pro, 1, 85 (2) ; Gly, 0, 99 (1) ; Ala, 1, 03 (1) ; Ile, 0, 76 (1).
Carboxypeptidase A**	(5 µl ; 1 h) Glu, 0, 32 ; Thr, 0, 19.
Peptide κA_1CN2Th3	
Composition en acides aminés	*Thr, 4, 12 (4)* ; Ser, 2, 01 (2) ; Glx, 2, 35 (2) ; Pro, 1, 87 (2) ; Gly, 0, 90 (1) ; Ala, 1, 66 (2) ; *Ile, 1, 00 (1)*.
Composition de la séquence homologue de κB_1 (MERCIER *et al.*, 1972)	Thr_3, Ser_2, Glx_2, Pro_2, Gly, Ala_2, Ile_2.
Leucine aminopeptidase	(2 µl ; 15 h) Ile, 0, 80 ; Ala, 0, 54.
Carboxypeptidase A**	(2 µl, 15 h) Thr, 0, 45 ; Glu, 0, 28 ; Ala, 0, 28.

* Mis en évidence par électrophorèse sur papier, sous la forme de phosphosérine, après hydrolyse acide ménagée.

** µl de solution commerciale/0,1 µmole de peptide.

séine $\varkappa A_1$ par le bromure de cyanogène et qui correspond au caséinomacropeptide amputé de son résidu méthionyle NH_2-terminal. Ce peptide a été préparé comme son homologue $\varkappa B_1CN2$ (MERCIER *et al.*, 1972). La confrontation de la composition en acides aminés de $\varkappa A_1CN2$ avec celle de $\varkappa B_1CN2$ (tabl. 1) confirme les conclusions de DE KONING *et al.* (1966) et HILL *et al.* (1970) : par rapport à $\varkappa B_1CN2$, $\varkappa A_1CN2$ possède un résidu alanyle et un résidu isoleucyle en moins, un résidu thréonyle et un résidu aspartyle ou asparaginyle en plus.

Pour localiser ces substitutions, le peptide $\varkappa A_1CN2$ a été hydrolysé par la thermolysine (11μ Moles ; E/S : 1/200 ; 40°C ; 1 heure) et l'hydrolysat ainsi obtenu chromatographié sur colonne de Dowex 50 WX2 (MERCIER *et al.*, 1972). Les principaux résultats de cette chromatographie figurent sur le tableau 1 : la première fraction du chromatogramme nous a fourni le peptide $\varkappa A_1CN2Th1$ dont la composition en acides aminés est, à une substitution Ala/Asx près, identique à celle du peptide $\varkappa B_1CN2Th1$. La seconde fraction nous a fourni le peptide $\varkappa A_1CN2Th2$ dont la composition, obtenue après repurification par électrophorèse sur papier, correspond, à une substitution Ile/Thr près, à la somme des compositions des peptides $\varkappa B_1CN2Th2$ et $\varkappa B_1CN2Th3$. La troisième fraction nous a fourni le peptide $\varkappa A_1CN2Th3$ dont la composition correspond, à une substitution Ile/Thr près, à la somme des compositions des peptides $\varkappa B_1CN2Th2$ et $\varkappa B_1CN2Th8$. La figure 1 montre l'emplacement de ces trois peptides

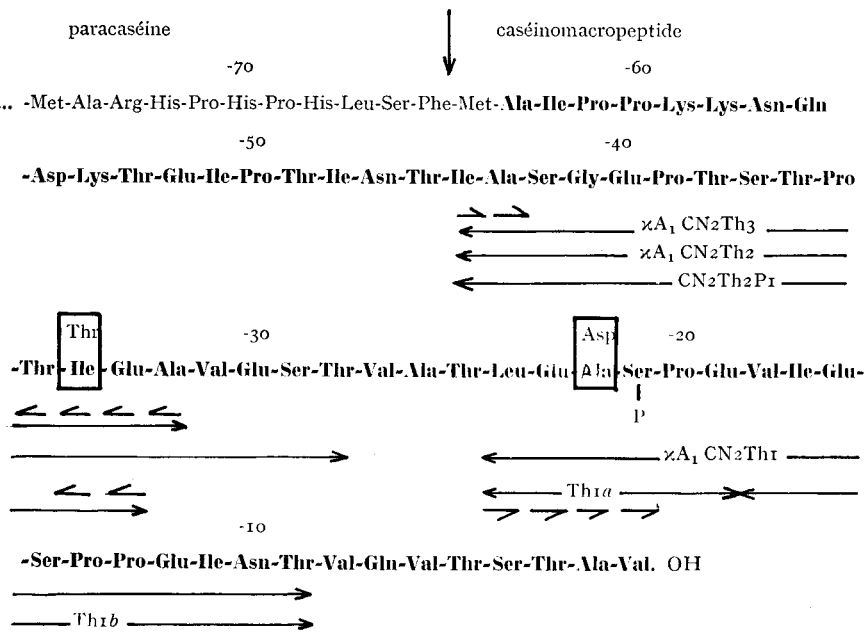

FIG. 1. — *Localisation dans le caséinomacropeptide des substitutions d'acides aminés différenciant les variants génétiques de la caséine κ bovine* (κA et κB).
La séquence de référence est celle du variant $\varkappa B_1$ (MERCIER *et al.*, 1972)

Les résidus sont numérotés négativement à partir de l'extrémité COOH-terminale du caséinomacropeptide, qui est aussi celle de la caséine κ. La séquence du peptide $\varkappa A_1CN2$ est imprimée en caractères gras. Les deux substitutions mises en évidence et localisées sont encadrées.
⟷, peptides ayant servi à localiser ces substitutions ; ⟶, acide aminé libéré par la leucine aminopeptidase ; ←—, acide aminé libéré par la carboxypeptidase A ; —→, acide aminé identifié par la technique soustractive d'Edman ; ↓ liaison dont l'hydrolyse par la présure libère le caséinomacropeptide.

dans la séquence du peptide CN2 (ou du caséinomacropeptide). A noter que les autres fractions du chromatogramme nous ont fourni, avec des compositions identiques à celles de leurs homologues du variant κB_1, les peptides correspondant au reste de la séquence de κA_1CN2.

D'autre part, une répétition de cette manipulation effectuée dans des conditions similaires à partir de 7 μ moles de peptide κA_1CN2, nous a permis d'isoler, à partir d'une fraction éluée juste après celle contenant κA_1CN2Th1, les peptides κA_1CN2Th1*a* et κA_1CN2Th1b, purifiés par chromatographie sur papier, lesquels ne peuvent provenir que de l'hydrolyse partielle du peptide κA_1CN2Th1 (tabl. 1 et fig. 1).

L'ensemble de ces résultats suggérait que κB_1CN2 et κA_1 CN2 différaient d'une part par une substitution Ile → Thr affectant l'élément de séquence représenté par le peptide κA_1CN2Th3 et d'autre part par une substitution Ala → Asx affectant l'élément de séquence représenté par le peptide κA_1CN2Th1a. L'identification exacte et la localisation de ces substitutions sont prouvées par les résultats suivants :

A. — *Peptides κA_1CN2Th3 et κA_1CN2Th2P1*

L'action de la leucine aminopeptidase montre que le seul résidu isoleucyle que contient le peptide κA_1CN2Th3 est situé en position NH_2-terminale ; par contre, l'action de la carboxypeptidase A ne donne pas de résultats concluants.

Le peptide κA_1CN2Th2 a alors été hydrolysé par la pepsine (3 μmoles ; E/S : 1/50, température ambiante ; 24 heures), et l'hydrolysat ainsi obtenu chromatographié sur colonne de Sephadex, en milieu acide acétique 30 vol. p. 100. La première fraction du chromatogramme nous a fourni le peptide κA_1CN2Th2P1, qui correspond au peptide κA_1CN2Th3 amputé d'un résidu alanyle, résidu qui est, on le voit, en position COOH-terminale dans ce dernier peptide. L'action de la carboxypeptidase A sur le peptide κA_1CN2Th2P1 montre que la séquence COOH-terminale de ce dernier est Thr-Glu OH. Autrement dit, la 34e position à partir de l'extrémité COOH-terminale du caséinomacropeptide (tabl. 1) est occupée, dans le variant A, par un résidu thréonyle, et non plus, comme dans le variant B, par un résidu isoleucyle.

B. — *Peptide κA_1CN2Th1a*

Les résultats des dégradations soustractives d'Edman montrent que le résidu qui précède le résidu phosphoséryle est un résidu aspartyle ou asparaginyle alors que dans le variant κB_1, la position correspondante (22e à partir de l'extrémité COOH-terminale) est occupée par un résidu alanyle. Nous avons vérifié par électrophorèse sur papier que l'action de l'aminopeptidase M libérait de l'acide aspartique, et non de l'asparagine.

CONCLUSION ET DISCUSSION

Le variant A de la caséine κ bovine diffère donc du variant B par deux substitutions d'acides aminés, une substitution Ala → Asp et une substitution Ile → Thr, ce qui confirme et précise les résultats de WOYCHIK *et al.* (1966), DE KONING *et al.* (1966) et HILL *et al.* (1970). Ces substitutions affectent respectivement la 22e et la 34e posi-

tion de la chaîne polypeptidique de la caséine $\varkappa$ à partir de son extrémité COOH-terminale. Chacune d'elles peut, selon le code génétique, ne dériver que de la mutation d'une seule paire de nucléotides ($GC^{C}_{U} \rightarrow GA^{C}_{U}$ pour Ala $\rightarrow$ Asp ; $AU^{C}_{U} \rightarrow AC^{C}_{U}$ pour Ile $\rightarrow$ Thr). La substitution Ile $\rightarrow$ Thr mettant en jeu des résidus neutres, c'est la seule substitution Ala $\rightarrow$ Asp qui est responsable de la différence de mobilité électrophorétique des deux variants A et B à pH alcalin. C'est donc elle, en fait, qui assure le marquage du locus $\varkappa$-Cn et, plus précisément, de l'extrémité terminale de ce locus.

Reçu pour publication en mai 1972.

SUMMARY

LOCALIZATION OF AMINO-ACID SUBSTITUTIONS DIFFERENTIATING THE A AND B VARIANTS OF $\varkappa$-CASEIN IN CATTLE

As was suggested by the results of WOYCHIK *et al.* (1966), DE KONING *et al.* (1966) and HILL *et al.* (1970) the caseinomacropeptides from the A and B variants of bovine $\varkappa$-casein differ by two amino-acid substitutions : Ala ($\varkappa$B) $\rightarrow$ Asp ($\varkappa$A) and Ile ($\varkappa$B) $\rightarrow$ Thr ($\varkappa$A).

These substitutions affect the 22 nd and 34 nd positions, respectively, from the COOH-terminus of the caseinomacropeptide, which is also the COOH-terminus of $\varkappa$-casein.

From a genetical point of view, the two variants of $\varkappa$-casein ensure the marking of the terminal part of $\varkappa$-casein locus.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ASCHAFFENBURG R., 1968. Genetic variants of milk proteins ; their breed distribution. *J. Dairy Res.*, **35**, 447-460.

DE KONING P. J., VAN ROOIJEN P. J., KOK A., 1966. Location of amino acid differences in the Genetic Variants of $\varkappa$-Casein A and B. *Biochem. Res. Commun.*, **24**, 616-621.

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., MAHÉ M.-F., MERCIER J.-C., RIBADEAU-DUMAS B., 1972. Caractérisation des variants génétiques des caséines α_{s1} et β bovines. *Eur. J. Biochem.*, **26**, 328-337.

GROSCLAUDE F., MERCIER J.-C., RIBADEAU-DUMAS B., 1969. Sur la localisation, dans la séquence COOH-terminale de la caséine α_{s1} bovine, de la substitution GLU/GLY différenciant les variants génétiques B et C. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.* (Paris), **268**, 3133-3136.

GROSCLAUDE F., MERCIER J.-C., RIBADEAU-DUMAS B., 1970. Structure primaire de la caséine α_{s1} bovine. Localisation des peptides trypsiques dans les fragments obtenus par hydrolyse trypsique de la caséine maléylée. *Eur. J. Biochem.*, **14**, 98-107.

GROSCLAUDE F., PUJOLLE J., GARNIER J., RIBADEAU-DUMAS B., 1965. Déterminisme génétique des caséines $\varkappa$ du lait de vache ; étroite liaison du locus $\varkappa$-C*n* avec les loci α_s-C*n* et β-C*n*. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.* Paris, **261**, 5229-5232.

GROSCLAUDE F., PUJOLLE J., RIBADEAU-DUMAS B., GARNIER J., 1966. Analyse génétique du groupe de loci de structure synthétisant les caséines bovines : in : *Polymorphismes biochimiques des animaux*, 415-420. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris.

HILL R. J., NAUGHTON M. A., WAKE R. G., 1970. The major genetic variant macropeptides of $\varkappa$-casein. A comparison of their amino-acid contents and tryptic peptides. *Biochem. Biophys. Acta*, **200**, 267-274.

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**, 324-325.

LARSEN B., THYMANN M., 1966. Studies on milk protein polymorphism in Danish cattle and the interaction of the controlling genes. *Acta vet. Scand.*, **7**, 189-205.

MERCIER J.-C., GROSCLAUDE F., RIBADEAU-DUMAS B., 1970 *a*. Structure primaire de la caséine α_{s1} bovine. Séquence de 48 résidus d'acides aminés de l'extrémité COOH-terminale. *Eur. J. Biochem.*, **14**, 108-119.

MERCIER J.-C., GROSCLAUDE F., RIBADEAU-DUMAS B., 1970 *b*. Structure primaire de la caséine α_{s1} bovine. Enchaînement des peptides obtenus par action du bromure de cyanogène et des peptides résultant de l'hydrolyse de la caséine α_{s1} maléylée. *Eur. J. Biochem.*, **16**, 439-446.

MERCIER J.-C., GROSCLAUDE F., RIBADEAU-DUMAS B., 1971. Structure primaire de la caséine α_{s1} bovine. Séquence complète. *Eur. J. Biochem.*, **23**, 41-51.

MERCIER J.-C., MAUBOIS J. L., POZNANSKI S., RIBADEAU-DUMAS B., 1968. Fractionnement préparatif des caséines de vache et de brebis par chromatographie sur DEAE cellulose, en milieu urée et 2-mercaptoéthanol. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **50**, 521-530.

MERCIER J.-C., URO J., RIBADEAU-DUMAS B., GROSCLAUDE F., 1972. Structure primaire du caséinomacropeptide de la caséine κ B_1 bovine. *Eur. J. Biochem.*, **27**, 535-547.

RIBADEAU-DUMAS B., BRIGNON G., GROSCLAUDE F., MERCIER J.-C., 1972. Structure primaire de la caséine β bovine. Séquence complète. *Eur. J. Biochem.*, **25**, 505-514.

RIBADEAU-DUMAS B., GROSCLAUDE F., MERCIER J.-C., 1971. Structure primaire de la caséine β bovine. Enchaînement des peptides trypsiques et des peptides obtenus par action du bromure de cyanogène. *Eur. J. Biochem.*, **18**, 252-257.

SCHMIDT D. G., 1964. Starch-gel electrophoresis of κ-casein. *Biochim. Biophys. Acta.*, **90**, 411-414.

THOMPSON M. P., 1970. Phenotyping milk proteins : a review. *J. Dairy Sci.*, **53**, 1341-1348.

WOYCHIK J. H., KALAN E. B., NOELKEN M. E., 1966. Chromatographic isolation and partial characterisation of reduced κ-casein components. *Biochemistry*, **5**, 2276-2282.

ZITTLE C. A., CUSTER J. H., 1963. Purification and some of the properties of α_s-casein and κ-casein. *J. Dairy Sci.*, **46**, 1183-1188.