

Forum technologique Novalait 2003

La régulation de l'expression de la κ -caséine : un marqueur de sélection pour du lait de meilleure qualité

Durée : 08/1999 – 08/2003

Résumé

La recherche en production laitière est de plus en plus axée vers l'amélioration de la qualité du lait en terme de contenu en protéine. La sélection génétique demeure une approche efficace pour atteindre cet objectif. Le présent projet visait à définir les bases moléculaires d'un phénotype d'expression différentielle du gène de la κ -caséine et à mesurer les effets du polymorphisme d'expression sur les paramètres de production laitière et les propriétés technologiques du lait. Le séquençage du gène de la κ -caséine provenant d'individus présentant ou non le phénotype d'expression différentielle n'a pas permis d'identifier un polymorphisme génétique relié directement à ce phénotype, ce qui suggère que l'élément de contrôle transcriptionnel impliqué n'est pas sur ou à proximité du gène. Conséquemment, l'étude ne pourra pas proposer comme prévu une méthode de génotypage du cheptel laitier sur la base du polymorphisme d'expression de la κ -caséine. Par contre, l'effet d'un polymorphisme d'expression de la κ -caséine sur la qualité du lait a été clairement établi. La productivité laitière et les propriétés technologiques du lait s'améliorent lorsque les vaches font partie du groupe exprimant de façon optimale la κ -caséine.

Objectifs et méthodologie

L'objectif général du programme de recherche consistait à définir des sites polymorphiques sur le gène de la κ -caséine pouvant être utilisés en sélection génétique assistée afin d'améliorer la qualité du lait en termes de composition et de caractéristiques physico-chimiques à incidences technologiques. Les objectifs spécifiques consistaient premièrement à identifier par séquençage du gène les mutations expliquant le phénomène d'expression différentielle du gène et de proposer une méthodologie de génotypage. Nous voulions aussi vérifier si l'expression phénotypique du caractère

était observée tout au long de la lactation chez les vaches présentant le phénotype d'expression différentielle du gène de la κ -caséine afin d'évaluer l'influence des facteurs physiologiques sur l'expression phénotypique du caractère. Nous voulions enfin étudier l'impact d'une surexpression du gène de la κ -caséine sur la productivité laitière et sur les propriétés du lait à incidences technologiques afin d'établir la pertinence de la sélection basée sur l'expression du gène de la κ -caséine.

Résultats et applications

Suite aux recherches dans le domaine des variants génétiques des protéines laitières suggérant en particulier une association entre le variant génétique B de la κ -caséine et l'amélioration de la qualité du lait, nous avons étudié le phénomène d'expression différentielle de la κ -caséine. Nous sommes arrivés à la conclusion que les niveaux d'expression du gène n'étaient pas directement reliés au variant génétique. Effectivement, nous avons démontré que la surexpression de l'allèle B par rapport à l'allèle A n'était observée que chez environ 60 % des vaches hétérozygotes κ -caséine AB (vaches du groupe HL); chez les autres vaches (vaches du groupe HH), l'expression des deux allèles était similaire. Le séquençage du gène de la κ -caséine a révélé la présence de 35 sites polymorphiques inédits en plus d'une insertion de 23 nucléotides à l'intérieur de l'intron 4 spécifique à l'allèle B, des deux sites déjà reconnus comme étant responsables des substitutions d'acides aminés au niveau de la protéine et du microsatellite BOVCASK35 présent dans l'intron 3. La très grande majorité de ces sites polymorphiques a été directement reliée aux allèles codant pour les variants génétiques A et B de la κ -caséine; aucun des sites n'a pu être associé à l'expression différentielle du gène de la κ -caséine. Il faut croire que l'élément de contrôle transcriptionnel impliqué dans le phénomène agit à distance. À ce stade-ci de la recherche et malgré tous nos efforts, nous ne pouvons pas proposer de méthode de génotypage du gène de la κ -caséine sur la base de son niveau d'expression. En conformité avec l'objectif général

du programme, nous avons voulu étendre notre étude à deux nouveaux sites polymorphiques intéressants parce qu'ils sont indépendants, non reliés aux variants génétiques de la κ -caséine, et qu'ils sont localisés dans la région 5'-non transcrite du gène où est retrouvée la majorité des éléments de contrôle transcriptionnel. Nous avons étudié la fréquence allélique et l'impact de cette double mutation sur la production et la composition du lait en utilisant pour ce faire la banque d'ADN génomique constituée par notre équipe. Les effets sur le contenu en protéine ont été significatifs; une différence dans le contenu en protéine pouvant atteindre 5 % a pu être observée entre certaines combinaisons génotypiques.

Le deuxième objectif consistait à étudier l'évolution du phénotype d'expression différentielle au cours de la lactation. Après avoir mis au point et validé la méthodologie d'extraction et de dosage des ARN à partir des cellules somatiques récupérées du lait, nous avons dosé les ARN messagers allèles A et B spécifiques présents dans les mammocytes sur une lactation complète. Nos résultats confirment que l'expression différentielle du gène de la κ -caséine est détectable phénotypiquement tout au long de la lactation, chez le groupe de vaches HL. Chez les vaches HH, les allèles A et B ont toujours été exprimés de façon similaire durant toute la lactation. Nous pouvons donc conclure que le phénotype d'expression différentielle du gène de la κ -caséine a une composante génétique très forte. Malgré le fait que l'étude ne portait que sur un nombre

Résultats et applications (suite)

restreint de vaches et qu'elle comparait un groupe extrême, des vaches HH, avec un groupe intermédiaire, les vaches HL, nous avons pu dégager une tendance vers une meilleure productivité laitière associée au groupe HH. La différence entre les deux groupes a été de l'ordre de 8 % pour tous les paramètres de production étudiés.

Nous avons enfin vérifié l'impact du polymorphisme d'expression du gène de la κ -caséine sur les propriétés du lait à incidences technologiques. Des laits provenant de vaches des groupes HL et HH ont été comparés selon différents critères physicochimiques, biochimiques et technologiques en faisant entrer l'effet du traitement thermique de pasteurisation comme cofacteur. Les

micelles de caséine des laits provenant du groupe HH étaient significativement plus petites et fixaient une plus grande quantité de β -lactoglobuline suite à un traitement thermique. Malgré une phase de latence plus longue, on observe une plus grande vitesse de réticulation et une porosité plus faible des gels présures obtenus à partir des laits provenant du groupe HH. Les fromages issus de ces laits sont en général plus humides et retiennent une plus grande quantité de protéines sériques lorsque le lait est préalablement chauffé. De plus, on observe une meilleure rétention de la fraction lipidique. Les avantages technologiques des laits provenant du groupe HH sont attribuables au faible diamètre et au rapport surface/volume élevé des micelles de caséine.

Transfert des résultats

L'étude est à toute fin pratique terminée. Il ne reste que la préparation du rapport et des publications. Les résultats obtenus ont permis jusqu'à maintenant la publication de trois articles scientifiques relatifs à la stabilité du lait face à l'ajout d'éthanol, au phénomène d'expression différentielle du gène de la β -lactoglobuline au cours de la lactation et à la présence d'un élément répétitif dans l'intron 2, l'élément Art2; la séquence complète de l'intron 2 du gène de la κ -caséine est maintenant disponible dans GenBank (no acc. AY185364). Trois articles sont présentement en préparation concernant respectivement le phénotype d'expression du gène de la κ -caséine au cours de la lactation, les conséquences technologiques du polymorphisme d'expression et les différences de séquence entre les allèles A et B du gène de la κ -caséine. À ce propos, nous comptons soumettre la séquence comparative des allèles A et B de la κ -caséine à

GenBank. De plus, quinze communications ont été présentées à des réunions scientifiques et quatre autres le seront cette année. Les deux étudiants à la maîtrise associés au projet ont terminé leurs études.

En termes de retombées, la contribution la plus importante de cette recherche a été de démontrer qu'il faudrait miser sur l'expression du gène de la κ -caséine de préférence au variant génétique dans un programme de sélection génétique assistée pour augmenter la protéine du lait. Il manque un élément essentiel pour que l'industrie de l'insémination artificielle puisse démarrer un tel programme, le marqueur génétique approprié. Le transfert technologique devra donc attendre que la mutation responsable du processus d'expression différentielle du gène de la κ -caséine soit bien définie.

Partenaires financiers

Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies

Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec

Novalait inc.

BUDGET TOTAL : 372 000 \$

Point de contact

Responsable du projet :

Jean Morisset

Université de Sherbrooke

Faculté de médecine

Département de médecine

3001, 12^e Avenue Nord, bureau 1434

Sherbrooke (Québec) J1H 5N4

Téléphone : (819) 820-6813

Télécopieur : (819) 820-6826

Courriel : Jean.Morisset@USherbrooke.ca

Collaborateurs :

Denis Petitclerc, chercheur, Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherche et de développement sur le bovin laitier et le porc

Michel Britten, chercheur, Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherche et de développement sur les aliments

Benoît Chabot, chercheur, **Gilles Robitaille**, chercheur et **Dominic Vachon**, étudiant 2^e cycle, Université de Sherbrooke, Faculté de médecine

Yves Pouliot, chercheur et **Geneviève Lapointe**, étudiante 2^e cycle, Université Laval, Centre de recherche en sciences et technologie du lait



2750, rue Einstein, bureau 220-A
Sainte-Foy (Québec) G1P 4R1

Téléphone : (418) 527-7947
Télécopieur : (419) 527-5957
Courriel : novalait@novalait.ca