



β -caseine nel latte bovino

S. Chessa

Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria

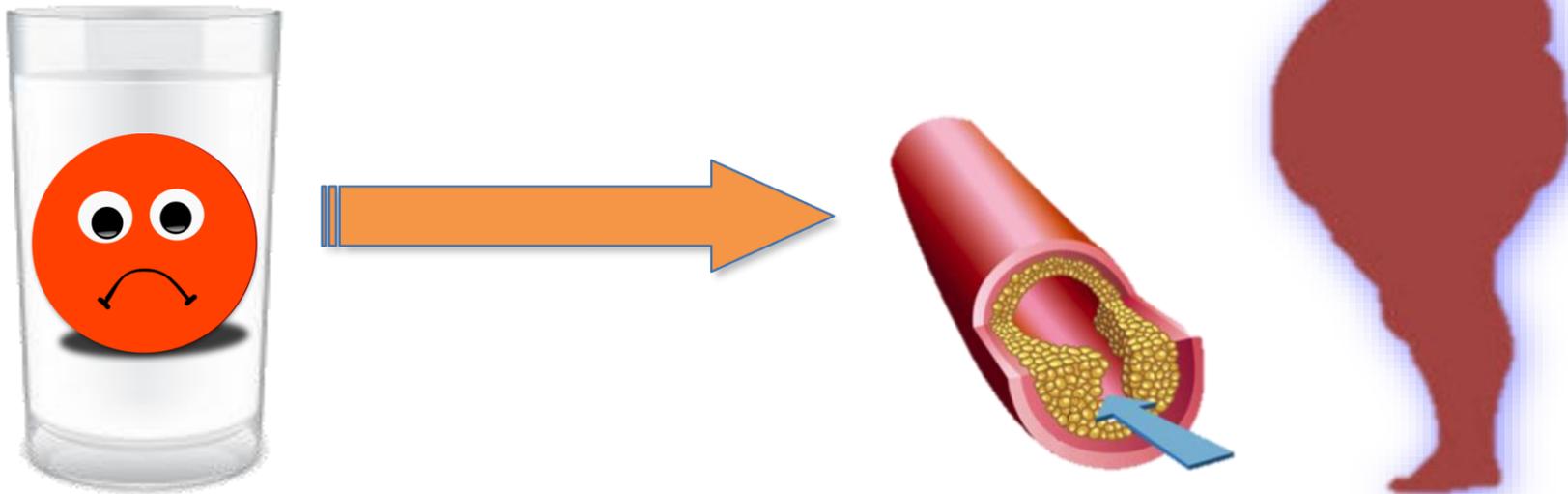
chessa@ibba.cnr.it



Consiglio Nazionale delle Ricerche

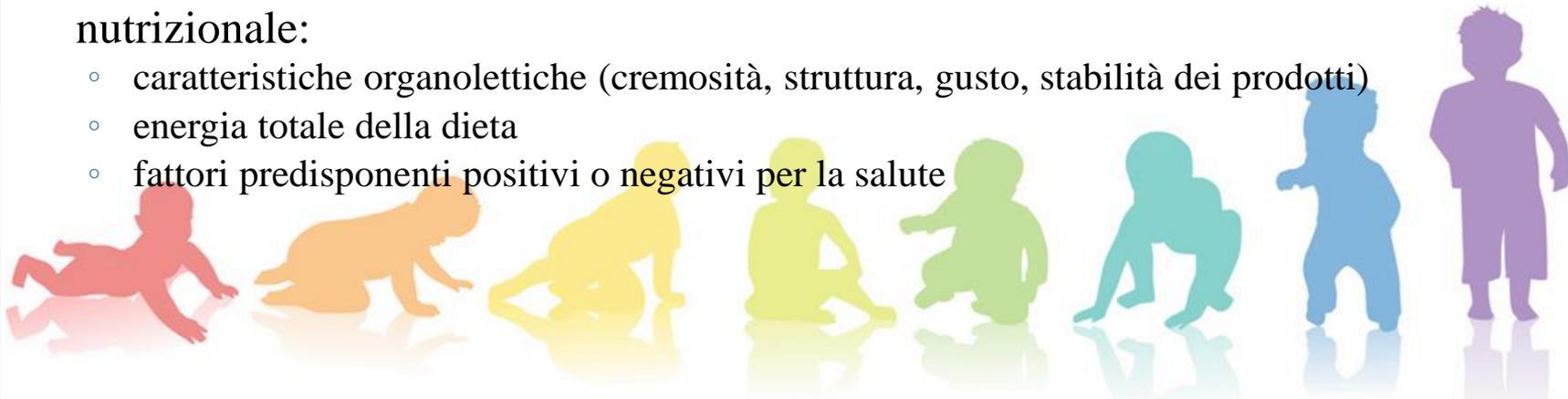
Qualità nutrizionale di latte e derivati

- Latte e derivati messi in discussione: **responsabili** di malattie degenerative dei paesi occidentali, compresa l'osteoporosi?
- Come tutti gli alimenti, hanno **pregi e difetti** → corretto uso in diete equilibrate
- Decisamente **utili** (spesso indispensabili), soprattutto dove povertà e basso livello tecnologico non offrono adeguata varietà di cibi e necessaria cura nella preparazione



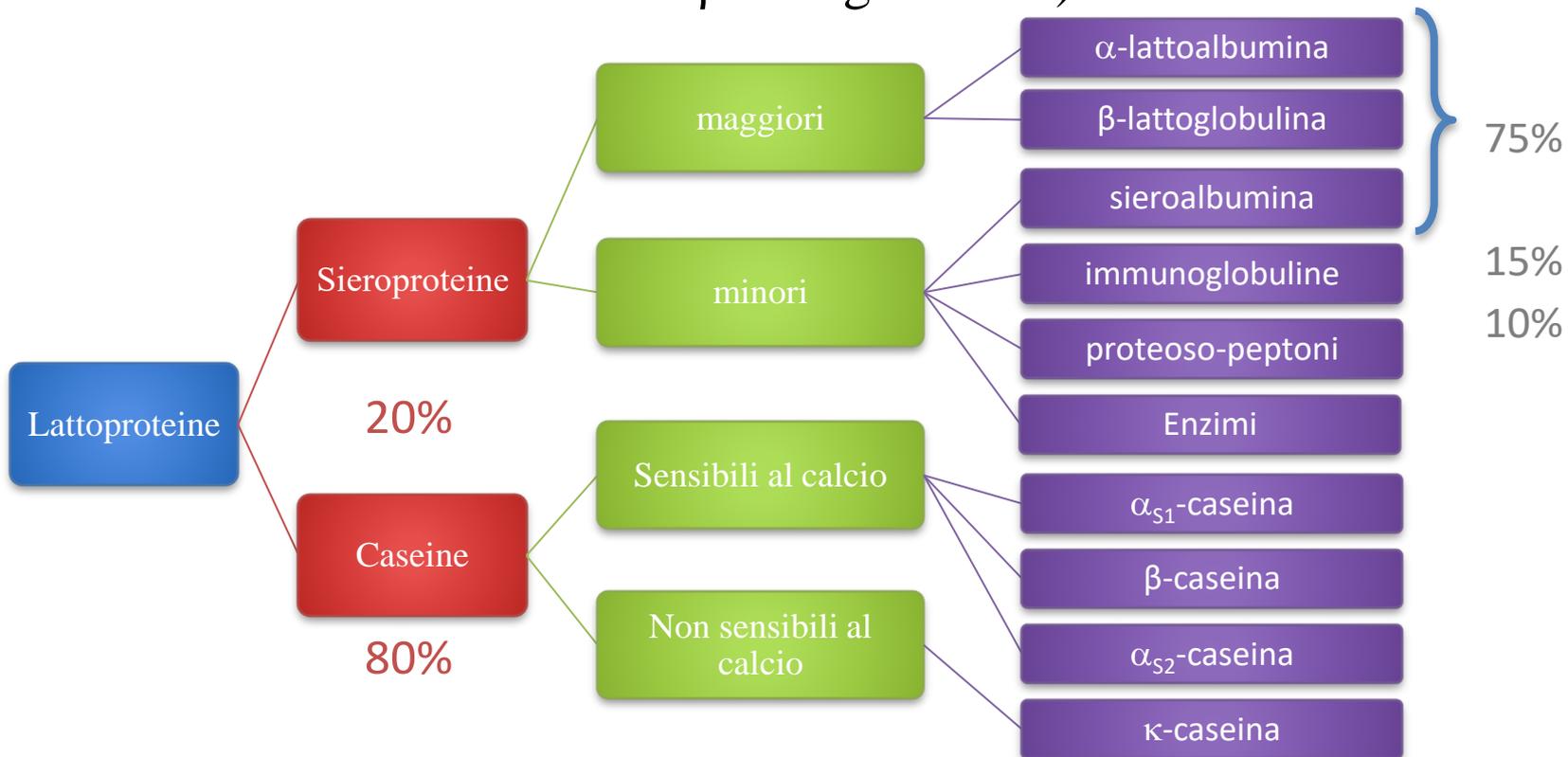
Qualità nutrizionale di latte e derivati

- Anche **dopo lo svezzamento**, il latte resta una delle più importanti **fonti** di:
 - proteine “nobili”
 - calcio (soprattutto calcio **bio-disponibile**)
 - micronutrienti essenziali tra cui **vitamine idrosolubili** (riboflavina o B2, cianocobalammina o B12), e **liposolubili** (beta-carotene o provit. A, retinolo o A, tocoferolo o E)
- Il latte contiene **~2.000 molecole minori** che possono presentare un'attività biologica particolare:
 - in grado di favorire l'utilizzazione fisiologica di nutrienti essenziali
 - In grado di esercitare un'azione antinfiammatoria e antiossidante
 - ormoni, enzimi, fattori di crescita
- La componente **grassa** gioca un ruolo importante dal punto di vista dietetico-nutrizionale:
 - caratteristiche organolettiche (cremosità, struttura, gusto, stabilità dei prodotti)
 - energia totale della dieta
 - fattori predisponenti positivi o negativi per la salute



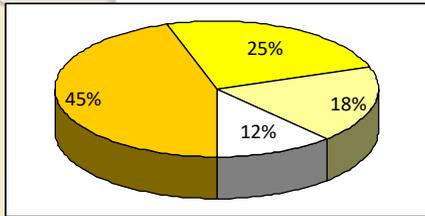
Le proteine del latte

- **Altamente nutritive** (contengono tutti gli aa essenziali)
- **Caseine** precipitano e **sieroproteine** in soluzione se acidificate a pH 4,6 a 20°C
- **95%** delle proteine del latte dei ruminanti = **6** proteine (le 4 caseine + α -lattoalbumina e β -lattoglobulina)

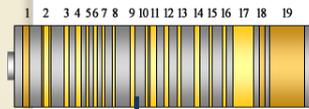


Caratteristiche delle caseine

~38%

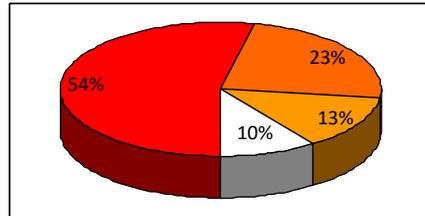


α_{S1} -caseina

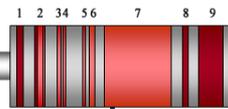


199 AA (+15)
PI basso
Piuttosto idrofoba

~38%

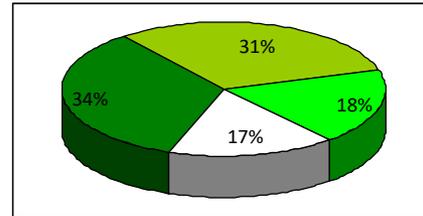


β -caseina

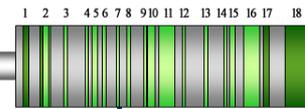


209 AA (+15)
PI intermedio
Altamente idrofoba

~9-10%

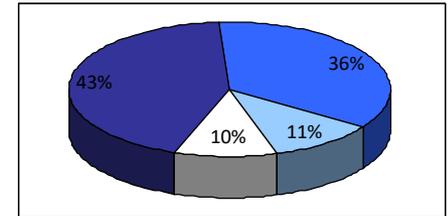


α_{S2} -caseina

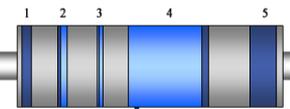


207 AA (+15)
PI alto
Meno idrofoba

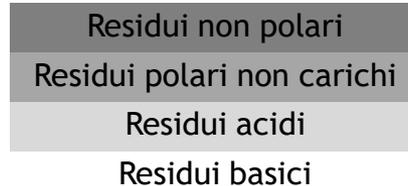
~13-15%



κ -caseina

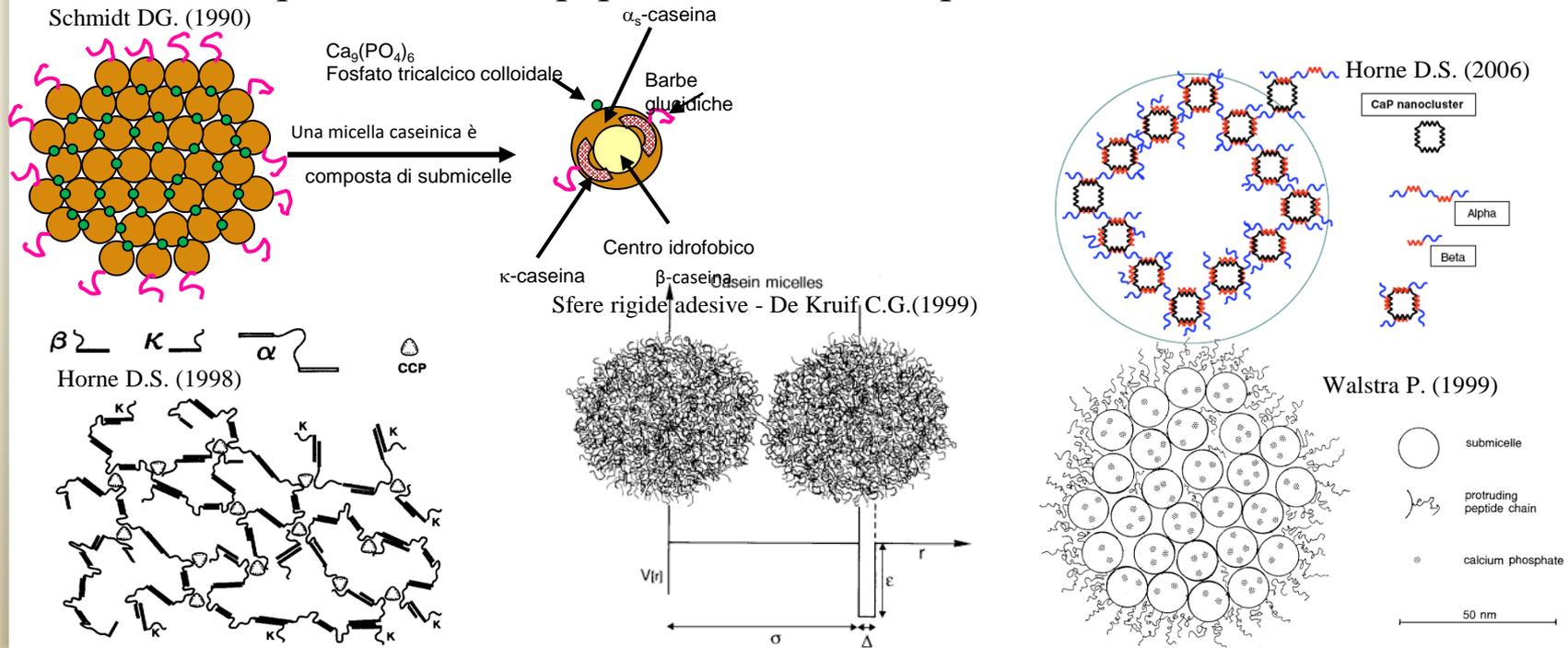


169 AA (+15)
PI più alto
Idrofila ($_1$ ParaK $_{105-106}$ MGP $_{169}$)



Il sistema micellare

- Modello più accreditato: le 4 caseine sono organizzate sotto forma di **submicelle** assemblate in micelle, particelle colloidali tenute insieme attraverso interazioni con fosfato di calcio
- In condizioni standard mantengono questa struttura per due motivi:
 - la carica elettrica, negativa a pH naturale, e le micelle si respingono
 - la presenza di un peptide idrofilo nella parte C-terminale della κ -caseina



Bioattività delle proteine del latte

Crescita e sviluppo del lattante

Peptidi del latte	Peptidi del latte	↑	Sviluppo lattotropo nell'epifisi del lattante
Prolattina	Prolattina	↑	Traffico dei linfociti, sviluppo immunitario
Fattori di crescita	IGF-1, TGF- α , EGF	↑	Sviluppo, attività e funzioni del fegato
PTHrP	PTHrP	↑	Metabolismo del Ca ⁺⁺
Prosaposina	Prosaposina	↑	Sviluppo neurologico

Effetti sul tratto gastroenterico

Caseina	Casomorfine	↓	Motilità intestinale, velocità del transito
		↓	Velocità di svuotamento gastrico
		↑	Assorbimento di aminoacidi ed elettroliti attraverso l'epitelio intestinale
Caseina	Casochinine	↑	Flusso sanguigno nell'epitelio intestinale
Fattori di crescita	IGF-1, TGF- α , EGF	↑	Accrescimento del tratto intestinale
Lattoferrina	Lattoferrina	↑	Proliferazione delle cellule dell'epitelio intestinale

Bioattività delle proteine del latte

Controllo della fauna microbica

Azione antibiotica			
Immunoglobuline	IgG, IgA	↑	Immunità passiva contro virus e batteri
Lattoferrina	Lattoferrina	↑	Inibizione dei batteri ferro-dipendenti
		↑	Attività delle cellule Killer attivate tramite linfocinine
		↓	Attacco virale e infezione cellulare
Lattoferrina	Lattoferricina	↑	Attività battericida su enteropatogeni Gram +/-
Glicolipidi, oligosaccaridi	Glicolipidi, oligosaccaridi	↓	Attacco di batteri e virus alle cellule dell'epitelio intestinale
			Colonizzazione batterica ed infezione virale
Azione probiotica			
Lattoferrina	Lattoferrina	↑	Crescita dei bifidobatteri nell'intestino
κ-caseina	CMP	↑	Crescita dei bifidobatteri nell'intestino
Oligosaccaridi	oligosaccaridi	↑	Crescita dei bifidobatteri nell'intestino

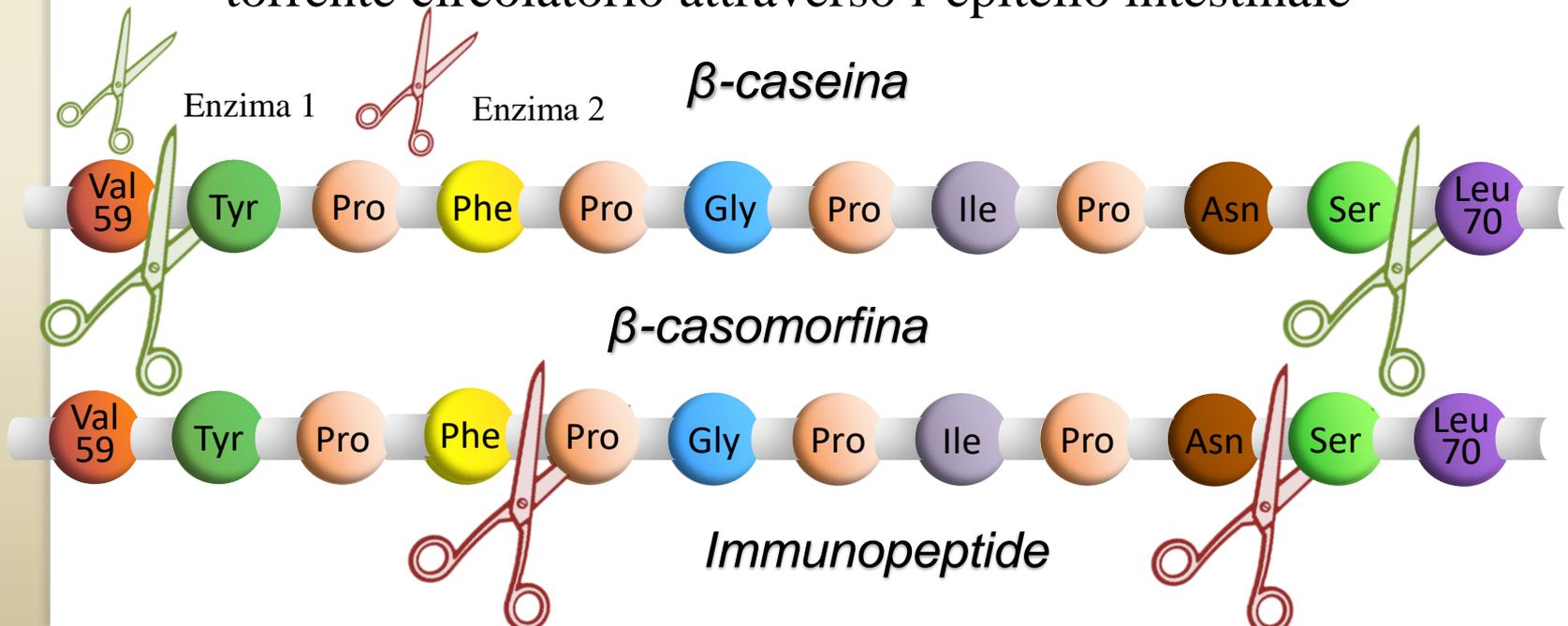
Bioattività delle proteine del latte

Risposta immunitaria

Immunoglobuline	IgG, IgA	↑	Immunità passiva
Citochine	IL-1, 2, 6 e 10, TNF- α , IFN- γ , TGF- α , TGF- β , PGE2, PGF22, Leucotriene B4	↑	Circolazione dei linfociti, sviluppo immunitario
Prolattina	Prolattina	↑	Circolazione dei timociti, sviluppo immunologico
Lattoferrina	Lattoferrina	↑	Risposta umorale ai globuli rossi ovini
			Sviluppo dei linfociti T-Helper (CD4+)
			Attività delle cellule Natural killer
			Attività di cellule Killer attivate da linfochine
			IL-6
		↓	TNF- α
Lattoferrina	Lattoferricina e peptidi N-terminali	↑	Risposta immunitaria umorale
		↓	Risposta infiammatoria a endotossine batteriche
Caseine	Casomorfine, casochine	↑	Risposta immunitaria e fagocitosi

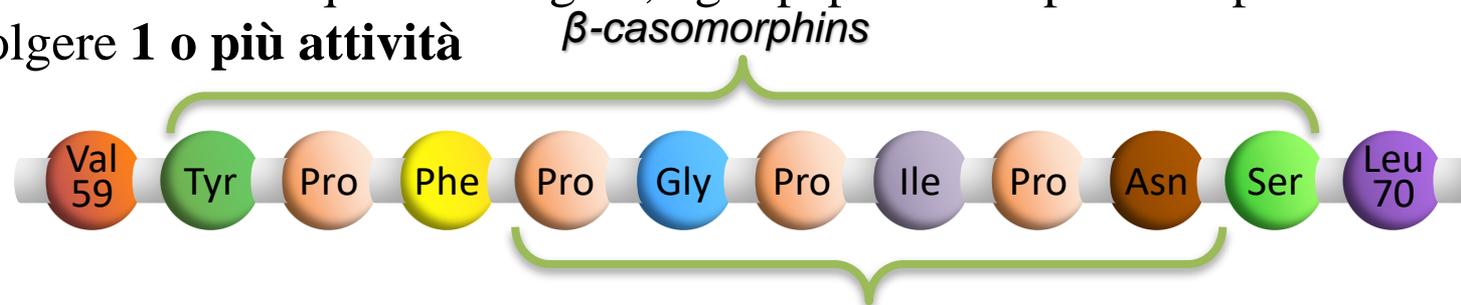
Qualità nutrizionale: biopeptidi

- Alcune delle attività precedentemente indicate sono svolte dai **peptidi bioattivi** (noti dal 1979)
- Hanno un effetto sulle funzioni biologiche e potrebbero influenzare lo stato di salute
- Sono **regolatori esogeni** con attività simile a quella ormonale (bersagli nel tratto gastroenterico o periferici passando dal torrente circolatorio attraverso l'epitelio intestinale)

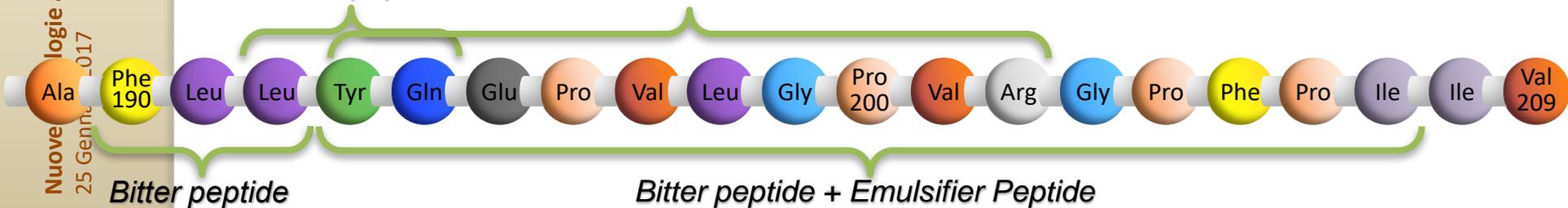


Qualità nutrizionale: biopeptidi

- Sono **inattivi** all'interno della proteina
- Devono essere rilasciati per proteolisi enzimatica durante digestione o trasformazione dei prodotti alimentari
- La loro attività dipende da:
 - Disponibilità della **proteina nativa** e delle sue isoforme
 - **Attività proteasica** di enzimi endogeni (sistema digestivo) o esogeni
- Diversamente da quelli endogeni, ogni peptide lattoproteico può svolgere **1 o più attività**



Immuno peptide *Casokinin + Bitter Peptide* *Immuno peptide*



Biopeptidi delle proteine del latte

Prot.	Loc.	Sequenza	Prot.	Loc.	Sequenza	Prot.	Loc.	Sequenza
	Oppioidi Agonisti							
α_{S1} -cn	90-95/96	RYLGYLE	κ -cn	56-61	LPYPYY	α_{S1} -cn	194-199	TTMPLW
α_{S1} -cn	91-96	YLGYLE	κ -cn	58-61	YPYY-[OCH3]	α_{S1} -cn	197-199	PLW
β -cn	60-63	YFPF-[NH2]		Anti-ipertensivi		α_{S1} -cn	198-199	LW
β -cn	60-64	YFPFG	α_{S1} -cn	23-27	FFVAP	β -cn	59-61/64	VYFPFG
β -cn	60-65	YFPFGP	α_{S1} -cn	23-34	FFVAPFPEVFGK	β -cn	60-66	YFPFGPI
β -cn	60-66	YFPFGPI	α_{S1} -cn	24-27	FVAP	β -cn	varie	FP
β -cn	60-70	YFPFGPIPNSL	α_{S1} -cn	25-27	VAP	β -cn	74-76	IPP
α -la	50-53	YGLF-[NH2]	α_{S1} -cn	27-30	PFPE	β -cn	80-89	TPVVVPPF...
β -lg	102-105	YLLF-[NH2]	α_{S1} -cn	28-34	FPEVFGK	β -cn	84-86	VPP
	Oppioidi Antagonisti		α_{S1} -cn	32-34	FGK	β -cn	108-113	EMPFPK
κ -cn	25-34	YIPIQYVLSR	α_{S1} -cn	104-109	YKVPQL	β -cn	114-115	YP
κ -cn	33-38	SRYPY-[OCH3]	α_{S1} -cn	142-147	LAYFYP	β -cn	140-143	LQSW
κ -cn	35-41	YPSYGLN	α_{S1} -cn	143-148	AYFYPE	β -cn	169-174/5	KVLPVPQ
κ -cn	35-38	YPSY	α_{S1} -cn	146-147	YP	β -cn	177-179/81	AVPYP
			α_{S1} -cn	157-164	DAYPSGAW	β -cn	177-183	AVPYPQR

Biopeptidi delle proteine del latte

Prot.	Loc.	Sequenza	Prot.	Loc.	Sequenza	Prot.	Loc.	Sequenza
β -cn	179-181	PYP	β -lg	9-14	GLDIQK	κ -cn	112-16	KNQDK
β -cn	181-183	PQR	β -lg	15-20	VAGTWY	κ -cn	113-16	NQDK
β -cn	193-198	YQEPVL	β -lg	78-80	IPA	Immunomodulatori		
β -cn	193-202	YQEPVLGP...	β -lg	102-103	YL	α_{S1} -cn	23-34	FFVAPFPE...
α_{S2} -cn	189-193	AMKPW	β -lg	102-105	YLLF	α_{S1} -cn	90-95/6	RYLGYLE
α_{S2} -cn	190-197	MKPWIQPK	β -lg	104-105	LF	α_{S1} -cn	194-199	TTMPLW
α_{S2} -cn	198-202	TKVIP	β -lg	142-148	ALPMHIR	β -cn	60-66	YFPFGPI
κ -cn	25-34	YIPIQYVLSR	β -lg	146/7-148	HIR	β -cn	60-70	YFPFGPIP...
κ -cn	35-41	YPSYGLN	β -lg	146/8-149	HIRL	β -cn	63-68	PGPIP N
κ -cn	58-59	YP	Antitrombotici			β -cn	177-83	AVPYPQR
κ -cn	108-110	IPP	κ -cn	103-11	LSFMAIPPK	Antimicrobici		
α -la	18-19/50-51	YG	κ -cn	106-69	-	α_{S1}/κ -cn	Vari fram.	-
α -la	50-53	YGLF	κ -cn	106-16	MAIPPCKN...	α_{S1} -cn	1-23	RPKHPIKH...
α -la	52-53	LF	κ -cn	106-11/2	MAIPPCK	α_{S2} -cn	150-188	KTKLTEEE...
α -la	105-110	LAHKAL	κ -cn	106-10	MAIPP	α_{S2} -cn	164-179	LKKISQRY...

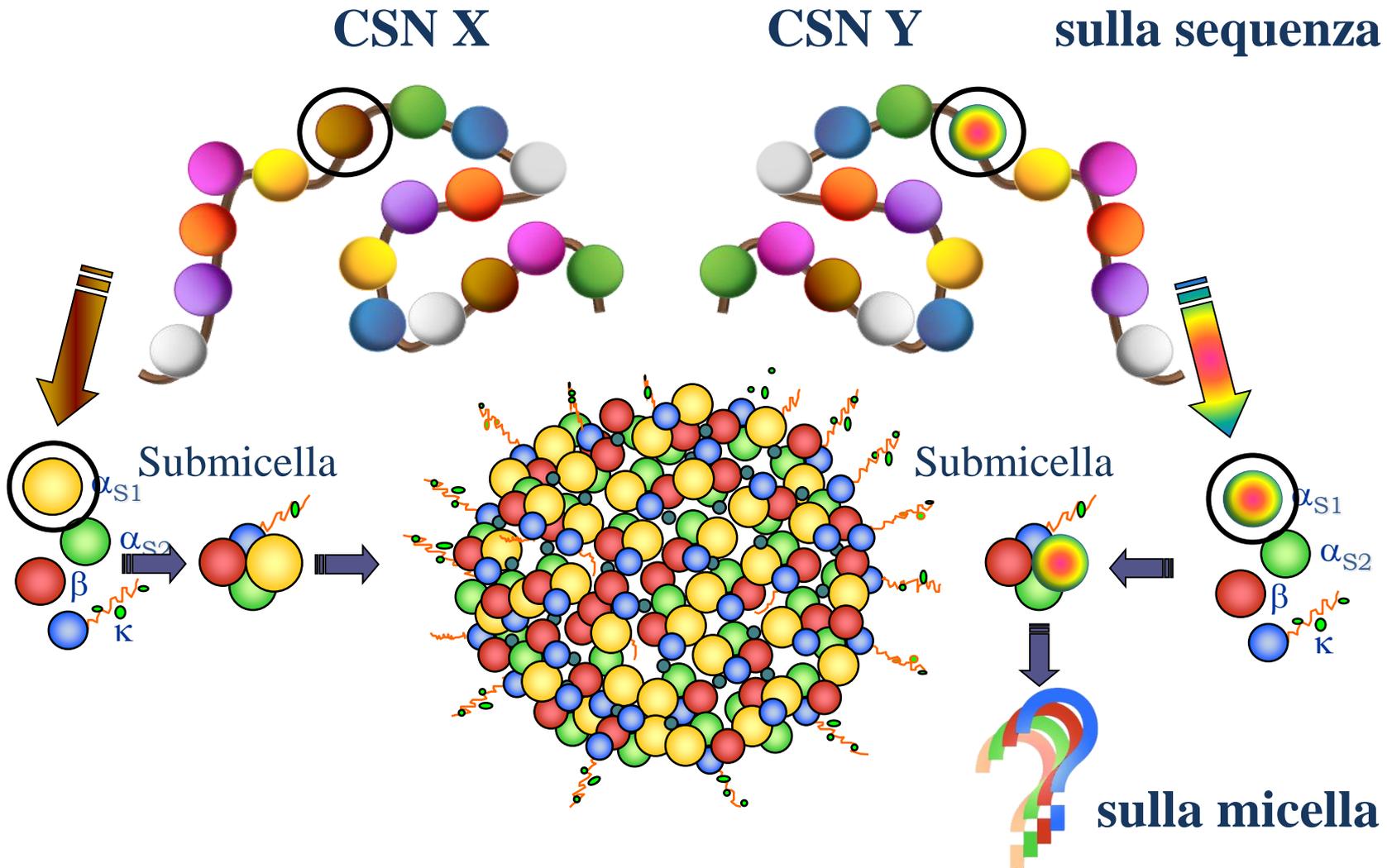
Biopeptidi delle proteine del latte

Prot.	Loc.	Sequenza	Prot.	Loc.	Sequenza
α_{s2} -cn	183-207	VYQHQA...	LF	20-30	RRWQWR...
κ -cn	106-169	-	LF	20-25	RRWQWR-NH ₂
α -la	1-5	EQLTK	Caseinofosfopeptidi		
α -la	[17-31]*[109-114]	[...PEWVCTTF]*[ALCSEK]	α_{s1} -cn	37-52	VNEL <u>S</u> KDIG <u>S</u> ESTEDQ
α -la	[61-68]*[75-80]	[CKDDQNP <u>H</u>]*[ISCDK <u>F</u>]	α_{s1} -cn	43-52/58 45-55/58	DIG <u>S</u> ESTEDQAMEDIK
β -lg	15-20	VAGTWY	α_{s1} -cn	59-78/79 e 61-78	QMEAE <u>S</u> <u>IS</u> SSSEIIVPN <u>S</u> VEQK
β -lg	25-40	AASDISLL...	α_{s1} -cn	66-74	<u>SS</u> SEEIVPN
β -lg	78-83	IPAVFK	β -cn	1/2-28 e 7-18/24	RELEELNVPGEIV <u>E</u> <u>S</u> <u>LS</u> SSSEESITRINK
β -lg	92-100	VLVLDTDYK	β -cn	29-41	KIEKFQ <u>S</u> EEQQQT
LF	1-48	APRKNVR...	α_{s2} -cn	1/2-19 e 2-21	KNTMEHV <u>SS</u> SE <u>S</u> IISQETYK
LF	17-41	FKCRRWQ...	α_{s2} -cn	53-69	SIG <u>SS</u> SE <u>S</u> AEVATEEV
LF	17-30/1	FKCRRWQ...	α_{s2} -cn	126-135	EQL <u>S</u> T <u>S</u> EENS
LF	19-37	CRRWQW...			

Variabilità genetica nel bovino

	Alleli	Esoni con mutazioni	Altre regioni
α_{S1} -caseina	9	8, 9, 11, 17, 19	Promotore, Introne 4
β -caseina	12	4, 5, 6, 7	
α_{S2} -caseina	4	3, 6, 7, 8, 12	
κ -caseina	11	4	Introne 2
β -lattoglobulina	11	2, 3, 4, 5, 6	Promotore
α -lattoalbumina	3	1	Promotore

Varianti genetiche e ripercussioni



Le β -caseine A1 e A2

J Appl Genet 48(3), 2007, pp. 189–198

Review article

Pol
eff

Stan

¹Depa

²Depa

A

ge

su

va

V

st

is

of

as

co

l

ro

le

no

K

Home

REVIEW

The A2 milk case: a critical review

AS Truswell^{1*}

¹Human Nutrition Unit, University of Sydney, Sydney, Australia

This review outlines a hypothesis that A1 one of the common variants of β -casein, a major protein in cows milk could facilitate the immunological processes that lead to type I diabetes (DM-I). It was subsequently suggested that A1 β -casein may also be a risk factor for coronary heart disease (CHD), based on between-country correlations of CHD mortality with estimated national consumption of A1 β -casein in a selected number of developed countries. A company, A2 Corporation was set up in New Zealand in the late 1990s to test cows and market milk in several countries with only the A2 variant of β -casein, which appeared not to have the disadvantages of A1 β -casein.

The second part of this review is a critique of the A1/A2 hypothesis. For both DM-I and CHD, the between-country correlation method is shown to be unreliable and negated by recalculation with more countries and by prospective studies in individuals. The animal experiments with diabetes-prone rodents that supported the hypothesis about diabetes were not confirmed by larger, better standardised multicentre experiments. The single animal experiment supporting an A1 β -casein and CHD link was small, short, in an unsuitable animal model and had other design weaknesses.

The A1/A2 milk hypothesis was ingenious. If the scientific evidence had worked out it would have required huge adjustments in the world's dairy industries. This review concludes, however, that there is no convincing or even probable evidence that the A1 β -casein of cow milk has any adverse effect in humans.

This review has been independent of examination of evidence related to A1 and A2 milk by the Australian and New Zealand food standard and food safety authorities, which have not published the evidence they have examined and the analysis of it. They stated in 2003 that no relationship has been established between A1 or A2 milk and diabetes, CHD or other diseases.

European Journal of Clinical Nutrition (2005) 59, 623–631. doi:10.1038/sj.ejcn.1602104

Keywords: coronary heart disease; type 1 diabetes; A1 & A2 variants of β -casein in cow milk

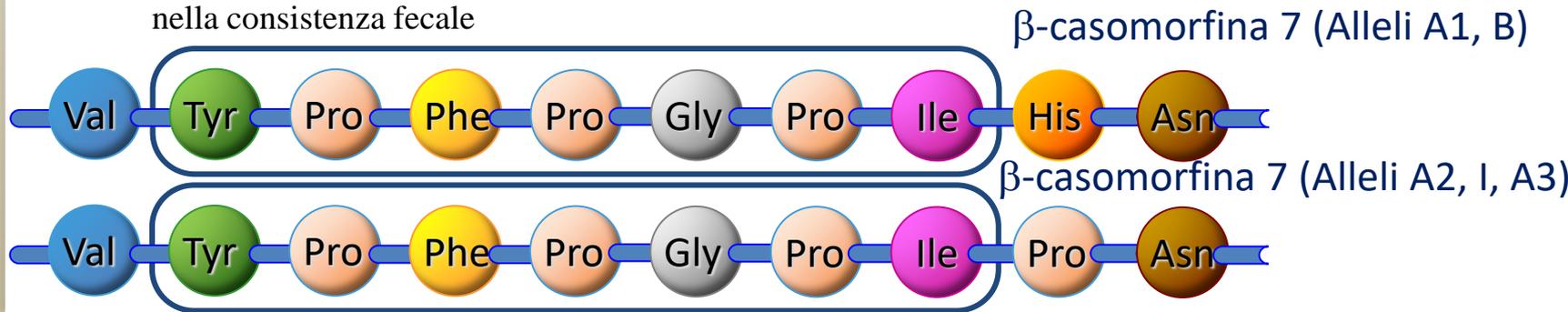
a2C

European Journal of Clinical Nutrition (2005) 59, 623–631
© 2005 Nature Publishing Group All rights reserved 0954-3007/05 \$30.00
www.nature.com/ejcn

mpg

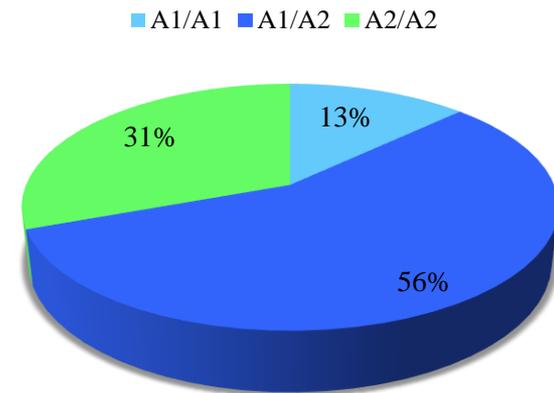
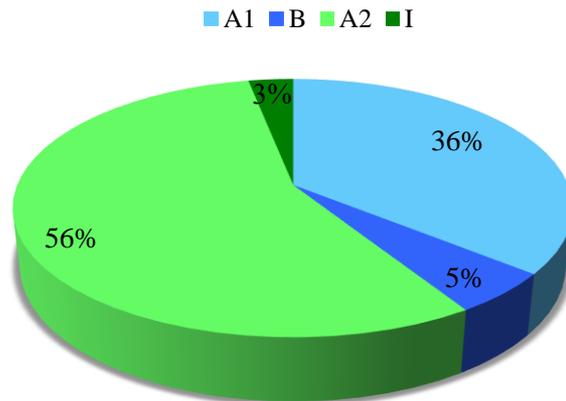
Le β -caseine A₁ e A₂ (e B, A₃ e I)

- Anni '90 **studi scientifici** ipotizzano impatto negativo per la salute umana legato al consumo di latte A₁:
 - alterazioni delle funzionalità gastrointestinali, patologie cardiovascolari, diabete di tipo I, dermatite atopica, aggravamento dei disturbi comportamentali legati a schizofrenia e autismo
- Studi *in vivo* dimostrano che le casomorfine diminuiscono la motilità gastrointestinale
- Nel 2009 l'**EFSA** riconosce alla BCM-7 attività biologiche di **regolazione della motilità gastrointestinale** e delle secrezioni gastriche, ma sottolinea la **limitata letteratura scientifica** sulla relazione causa-effetto BMC-7 e le **sudette patologie**
- **Nuovi studi** sulle β -casomorfine:
 - il consumo di β -caseina A₁ ha riportato **effetti infiammatori** nell'intestino di topi e un aumento del tempo del **transito intestinale**
 - in bambini cronicamente affetti da costipazione, il problema si è risolto nell'81% dei casi mediante eliminazione del latte dalla dieta, nel 79% dei casi somministrando latte A₂, e nel 57% dei casi somministrando latte commerciale (A₁ e A₂) → numero limitato di soggetti
 - la somministrazione di latte A₁ o A₂ a un gruppo di circa 40 persone ha determinato delle differenze nella consistenza fecale



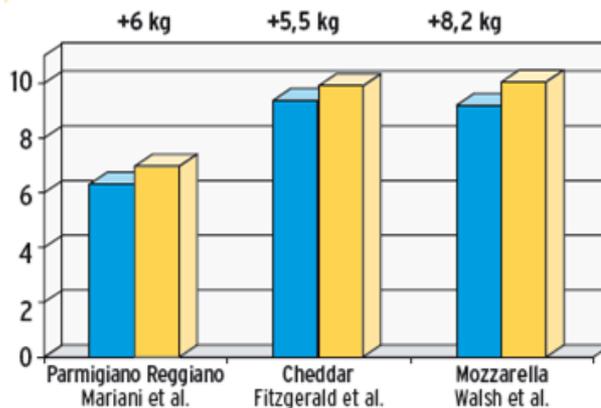
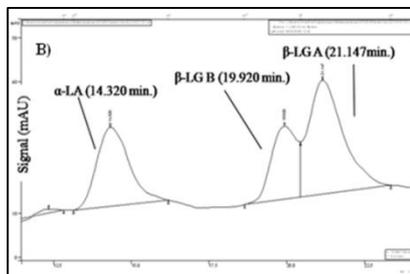
Le β -caseine A1 e A2 e le altre

Variant e	Freq. min. (%)	Freq. media (%)	Freq. max (%)	Moda (%)
A ₁	15,6	32,7	48,5	37,9
A ₂	48,9	60,7	80,0	55,2
B	0	6,6	25,1	7,4

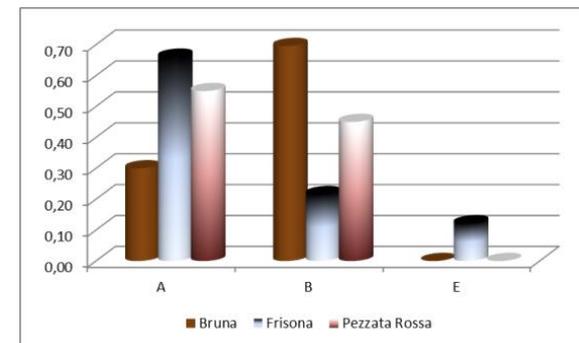


Varianti lattoproteiche e qualità del latte

- α_{S1} -caseina
 - allele G < produzione di α_{S1} -CN e proporzionale aumento delle altre CN
- β -caseina
 - allele B – migliore attitudine alla caseificazione
- κ -caseina
 - allele B – reagisce meglio al caglio, coagulazione più rapida, micelle più uniforme, + siti per la chimosina, rese >, migliori caratteristiche sensoriali
 - Alleli E e G – effetti negativi sulla caseificazione
- β -Ig: effetti su quantità di lattoproteine e CN e sulla coagulazione
 - Allele A +25% β -Ig
 - Allele B +7% caseine, migliore attitudine alla coagulazione, migliore resa



Latte contenente κ -cn BB anziché AA



Effetto dell'aplotipo caseinico

Table 2. Estimates of haplotype frequencies and effects (SE in parentheses) on milk production traits in Italian Holstein cows (n = 347).

Haplotype	Frequency ¹	Milk	Fat	Protein	Fat	Protein
		(kg)			—— (%) ——	
(α_{S1} - β - κ)						
BA ¹ A	0.28	86 (80)	2.8 (3.2)	2.7 (2.3)	-0.01 (0.026)	-0.00 (0.01)
BA ¹ B	0.04	-218 (190)	4.4 (8.3)	-0.3 (5.4)	0.16 (0.059)**	0.09 (0.03)**
BA ¹ E	0.06	-71 (170)	1.5 (7.4)	-2.2 (4.8)	0.06 (0.053)	0.00 (0.02)
BA ² A	0.48	36 (60)	-0.1 (2.7)	0.3 (1.8)	-0.01 (0.02)	-0.01 (0.01)
BA ² B	0.05	52 (190)	-5.3 (8.3)	6.1 (5.4)	-0.08 (0.06)	0.05 (0.03)†
BA ² E	0.02	-157 (337)	4.0 (14.5)	-7.7 (9.5)	0.08 (0.10)	-0.05 (0.05)
BBA	<0.01	325 (433)	25.7 (18.6)	5.0 (12.2)	0.13 (0.12)	-0.08 (0.06)
BBB	0.06	-85 (148)	-2.2 (6.5)	-3.2 (4.2)	0.01 (0.05)	-0.05 (0.05)
CA ³ A	<0.01	-290 (526)	-24.9 (23)	1.4 (15.8)	-0.16 (0.16)	0.122 (0.07)†
Overall P	...	0.90	0.84	0.84	0.09†	0.01**

Table 3. Estimates of haplotype frequencies and effects (SE in parentheses) on milk production traits in Italian Brown Swiss cows (n = 298).

Haplotype	Frequency ¹	Milk	Fat	Protein	Fat content	Protein content
		(kg)			—— (%) ——	
(α_{S1} - β - κ)						
BA ¹ A	0.10	34 (190)	0.4 (7.7)	-2.0 (6.2)	-0.02 (0.06)	-0.05 (0.04)
BA ¹ B	0.01	-397 (183)*	3.2 (7.3)	-5.2 (5.6)	0.27 (0.06)***	0.11 (0.04)**
BA ² A	0.11	91 (68)	2.2 (2.6)	-0.5 (2.1)	-0.02 (0.02)	-0.06 (0.02)***
BA ² B	0.50	31 (42)	-0.6 (1.6)	1.1 (1.2)	-0.02 (0.01)†	-0.00 (0.01)
BBA	0.11	113 (72)	3.8 (2.8)	0.7 (2.2)	-0.01 (0.02)	-0.04 (0.02)**
BBB	0.07	-36 (75)	2.2 (2.6)	2.8 (2.4)	0.05 (0.03)†	0.06 (0.02)**
CA ³ A	0.02	-252 (130)	-6.9 (5.2)	-8.2 (4.1)*	0.04 (0.04)	-0.01 (0.02)
CA ² B	0.05	-248 (98)*	-6.1 (3.9)	-2.8 (3.1)	0.05 (0.03)	0.08 (0.02)***
FA ² B	0.01	-1525 (1174)	-75.7 (47.6)	-46.8 (38.1)	-0.27 (0.40)	0.06 (0.23)
Overall P	...	0.01**	0.18	0.28	<0.001***	<0.0001***

†P ≤ 0.10.

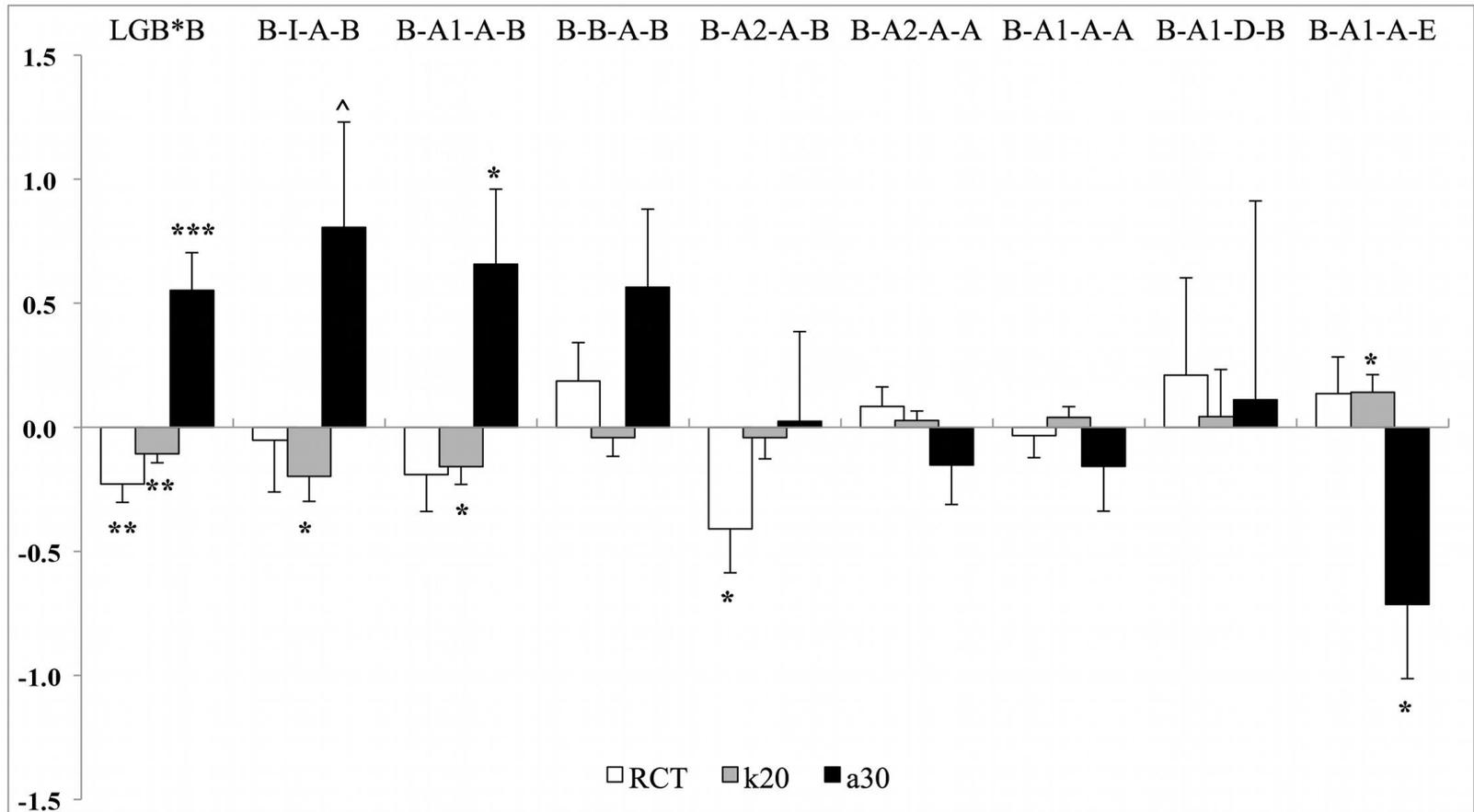
*P ≤ 0.05.

**P ≤ 0.01.

***P ≤ 0.001.

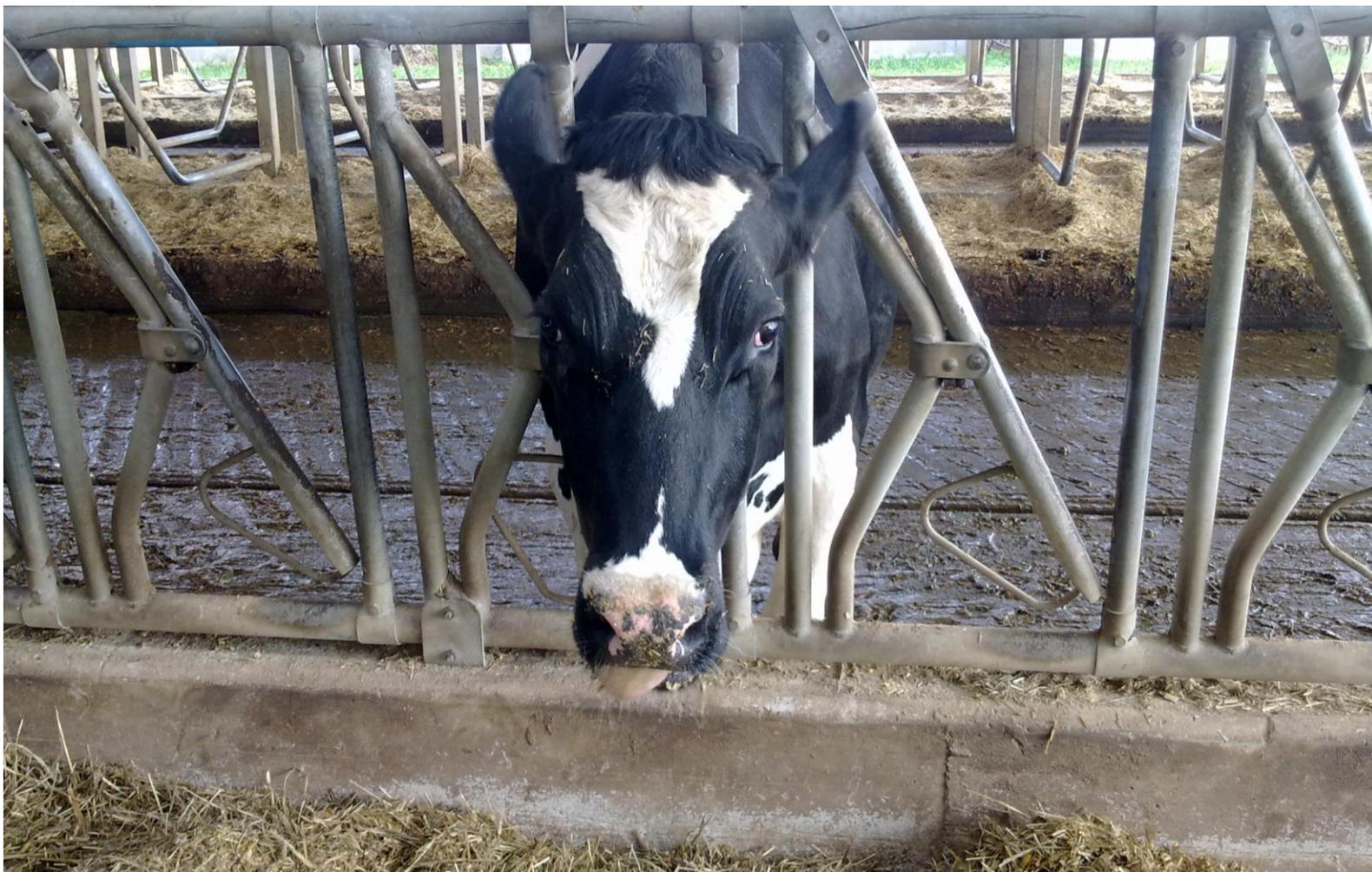
¹Other rare haplotypes accounted for <2% of the population.

LGB e aptotipo caseinico e caratteri legati alla caseificabilità



Chessa et al. (2014) J. Dairy Sci. 97:4512–4521.

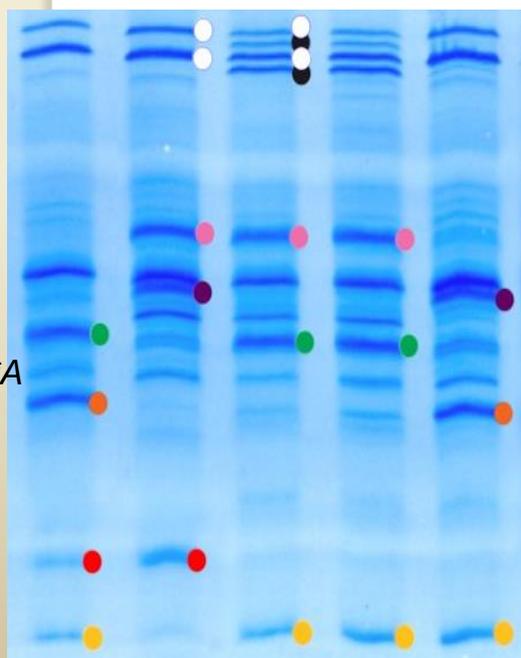
Grazie dell'attenzione



Genotyping



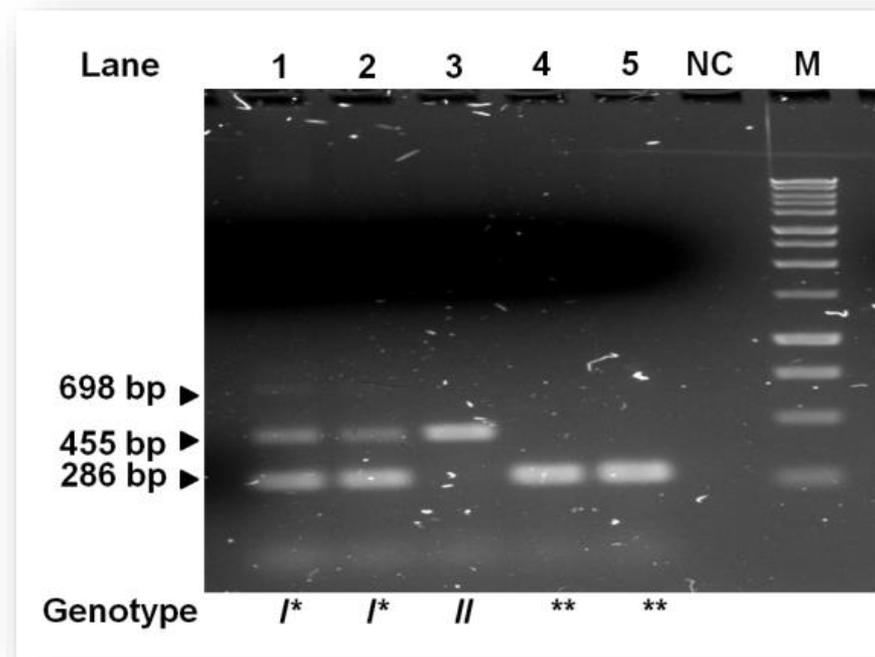
- Milk proteins were genotyped by IEF and BAS-PCR (for *CSN2*1*)
- Casein haplotypes (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN1S2*, and *CSN3*) of the daughters, sires and dams were reconstructed of the HAPLOTYPE procedures of SAS (SAS Institute, 2008)



*CSN1S1*B*
*CSN1S1*C*
 (A, E, G)

*CSN2*A²=CSN2*1*
*CSN2*A¹*
*CSN2*B*
*CSN2*C*
 (A³, D, E, H²)

*CSN3*A*
*CSN3*B*
 (C, E, G¹, J)



Introduzione

- Come migliorare l'attitudine alla trasformazione casearia?
 1. individuare i fenotipi adatti
 - MCP
 - CFt
 - CY
 2. stimarne i parametri genetici
 - Ereditabilità
 - Correlazione
 3. applicare schemi di selezione adeguati



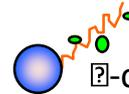
α_{s1} -casein



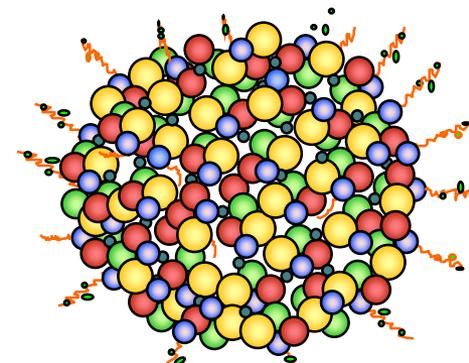
β -casein



α_{s2} -casein



κ -casein



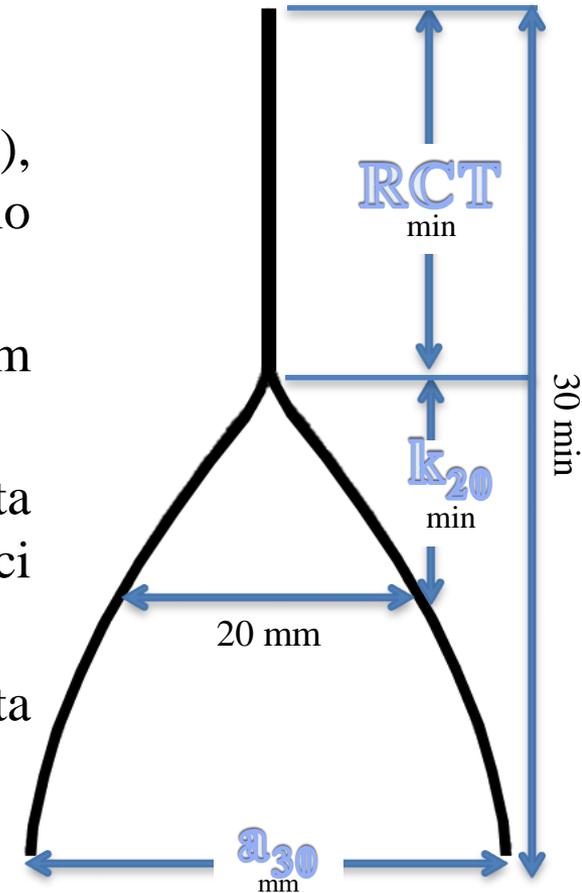
Milk Coagulation Properties (MCP)

- L'attitudine del latte di singole vacche è valutata tramite misurazione delle milk coagulation properties (MCP)
- L'approccio più comune per la valutazione delle MCP è la lattodinamografia:
 - strumenti meccanici
 - Formagraph (Foss Electric, Hillerød, Denmark)
 - Computerized Renneting Meter - CRM (Polo Trade, Monselice)
 - Strumenti ottici
 - Optigraph (Ysebaert, Frépillon, France) → lunghezza d'onda NIR per monitorare la coagulazione



MCP misurate

1. **RCT** (tempo di coagulazione del latte, min), intervallo di tempo dall'aggiunta del caglio all'inizio della formazione del coagulo
 2. **k₂₀**, tempo di rassodamento del coagulo a 20 mm di apertura della forcina (min)
 3. **a₃₀**, consistenza del coagulo 30' dopo l'aggiunta del caglio (distanza in mm between fra i 2 bracci della forcina)
- + **a₄₅**, consistenza del coagulo 45' dopo l'aggiunta del caglio (con gli strumenti ottici)



MCP: possibili risultati

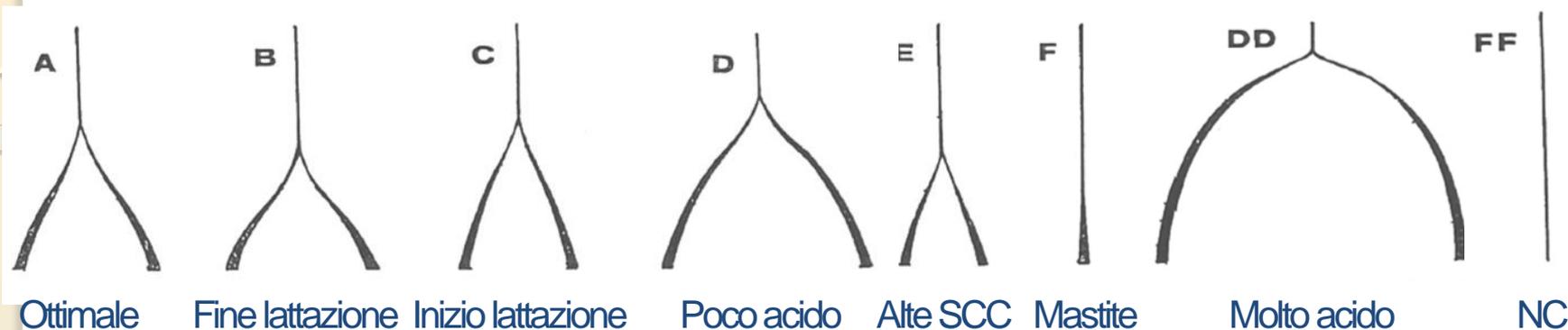


Table 1. Classification of milk according to the shape of lactodynamographic curves and their desirability for the dairy industry (Annibaldi et al., 1977)

Type of milk	Milk coagulation property ¹				
	RCT, min	k ₂₀ , min	a ₃₀ , mm	RCT/k ₂₀ , min/min	RCT/a ₃₀ , min/mm
Optimal milk					
Type A	13	9	35	1.3–1.5	0.25–0.60
Suboptimal milk					
Type B	16	7	38	1.8–2.5	0.3–1.0
Type C	11	11.5	29	0.7–1.0	0.3–0.7
Type D	9.5	5	54	1.7–1.3	0.1–0.25
Defect milk					
Type E	17	13	15	1.2–1.3	0.8–2.8
Type F	~30	→∞	<5	<1.0	>6.0
Type DD	<5	<3	>60	1.7–2.0	<0.1
Noncoagulating milk					
Type FF	→∞	→∞	0	—	—

¹RCT = rennet coagulation time; k₂₀ = curd-firming time; a₃₀ = curd firmness.

Parametri CF_t

1. RCT_{eq} : RCT (min) stimato tramite equazione CF_t
2. CF_p : fermezza del coagulo asintotica potenziale (mm)
3. k_{CF} : costante del tasso di rassodamento ($\% \times \text{min}^{-1}$)
4. k_{SR} : costante del tasso di sineresi ($\% \times \text{min}^{-1}$)
5. CF_{max} : massima fermezza della cagliata (mm)
6. t_{max} : tempo al CF_{max} (min)

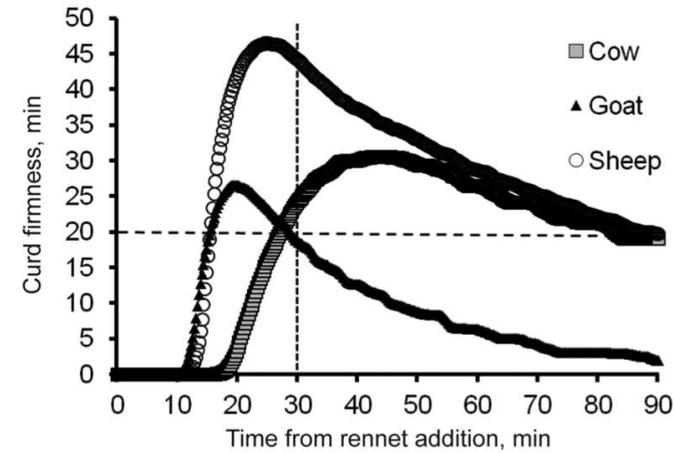
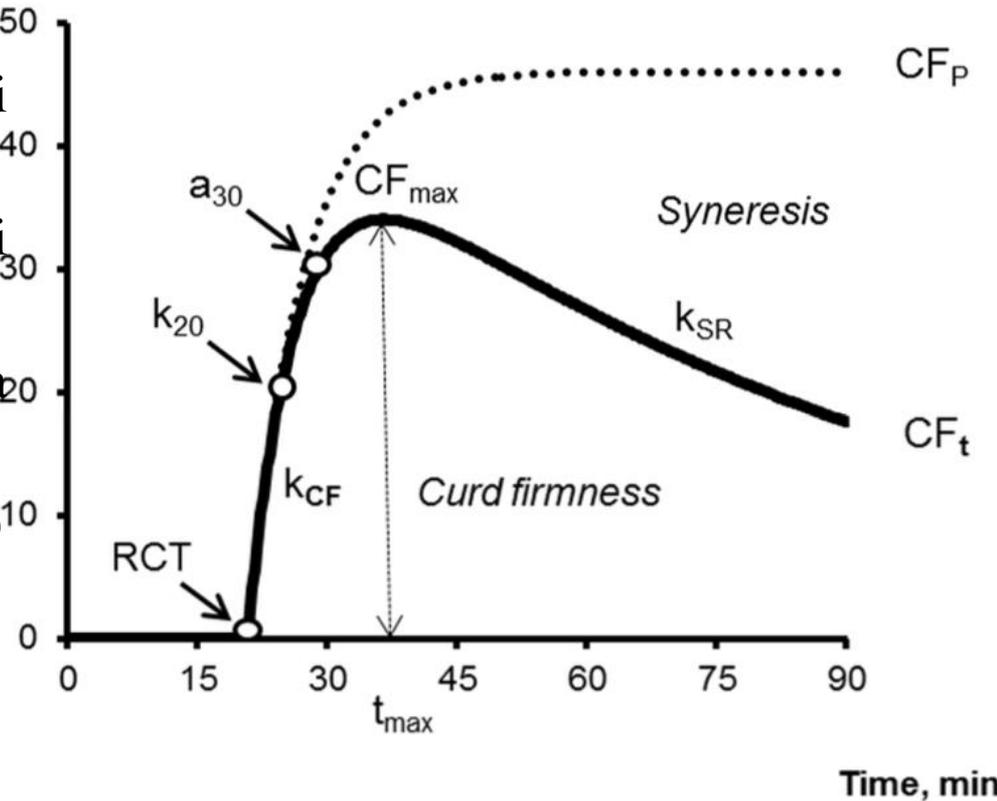


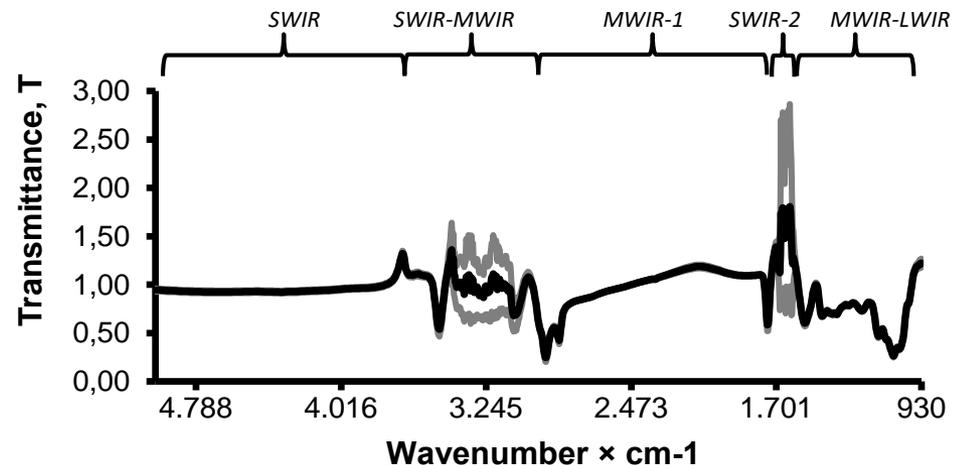
Figure 4. Curd firmness registered for 90 min after rennet addition to milk produced from Holstein-Friesian cows, Saanen goats, and Massese sheep (G. Bittante, unpublished data).



Time, min

Limitazioni

- I metodi per **modellizzare** la produzione di formaggio e **valutare** accuratamente la resa casearia
 - richiedono tempo e denaro, non sono applicabili di routine
 - pochi studi hanno valutato il latte individuale e pertanto non il valore dei singoli animali
 - sono stati di norma applicati su un numero ridotto di campioni
- Le **formule** usate per predire la resa casearia dal contenuto in grasso e proteine
 - la composizione del latte deve essere nota
 - sono più efficaci dell'uso diretto della composizione del latte



Ereditabilità dei caratteri legati alla caseificabilità

1. RCT	1. 0,27
2. k_{20}	2. 0,15
3. a_{30}	3. 0,17
4. RCT_{eq}	4. 0,26
5. CF_p	5. 0,06
6. k_{CF}	6. 0,24
7. k_{SR}	7. 0,06
8. Cf_{max}	8. 0,21
9. t_{max}	9. 0,22
10. pH	10. 0,45
11. % proteine	11. 0,24
12. %CY _{CURD}	12. 0,37
13. %CY _{SOLIDS}	13. 0,29
14. %CY _{WATER}	14. 0,26
15. REC _{SOLIDS}	15. 0,29
16. REC _{FAT}	16. 0,14
17. REC _{PROTEIN}	17. 0,46
18. REC _{ENERGY}	18. 0,24

Chessa et al. (2014) J. Dairy Sci. 97:4512–4521.

Cecchinato et al. (2015) J. Dairy Sci. 98:4914–4927.

EBV dei caratteri legati alla caseificabilità

	Vacche			Tori			
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	
Milk (Kg)	0.101±1.192	-6.116	5.985	1.124±1.075	-4.747	11.66	5.729
Protein (%)	-0.012±0.055	-0.282	0.266	-0.016±0.048	-0.251	0.45	0.183
Fat (%)	-0.019±0.092	-0.504	0.473	-0.018±0.069	-0.396	0.79	0.354
RCT	0.044±0.296	-2.022	2.095	-0.043±0.242	-1.256	3.47	1.680
k₂₀	0.039±0.229	-1.137	1.159	0.052±0.188	-1.023	2.12	1.114
a₃₀	-0.242±1.172	-9.207	18.422	-0.319±1.348	-7.768	15.54	7.447

What's going on... gene effects: other genes

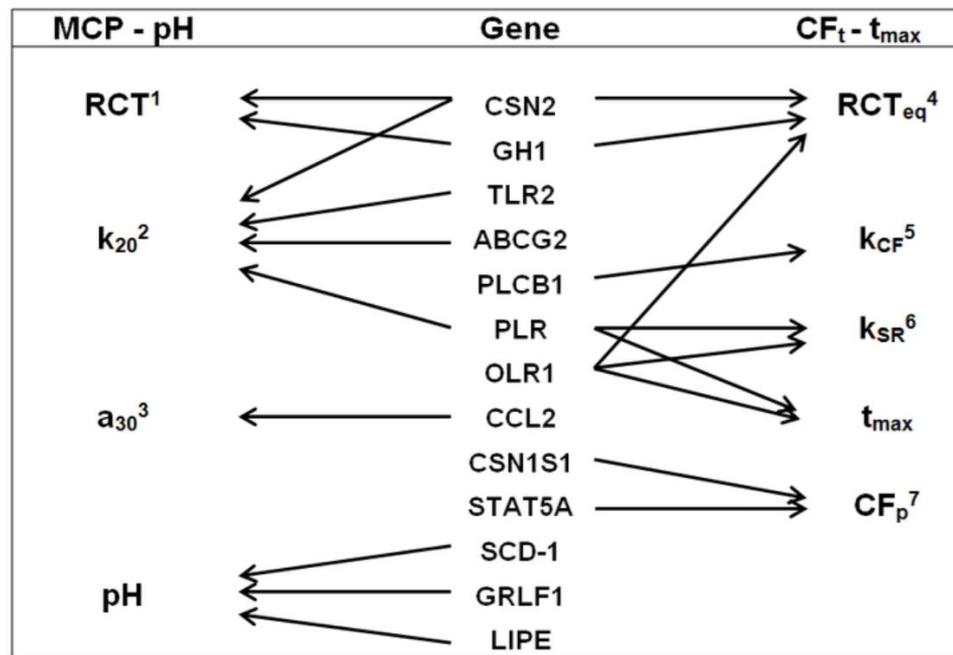
Animal, page 1 of 9 © The Animal Consortium 2015
doi:10.1017/S1751731115000440



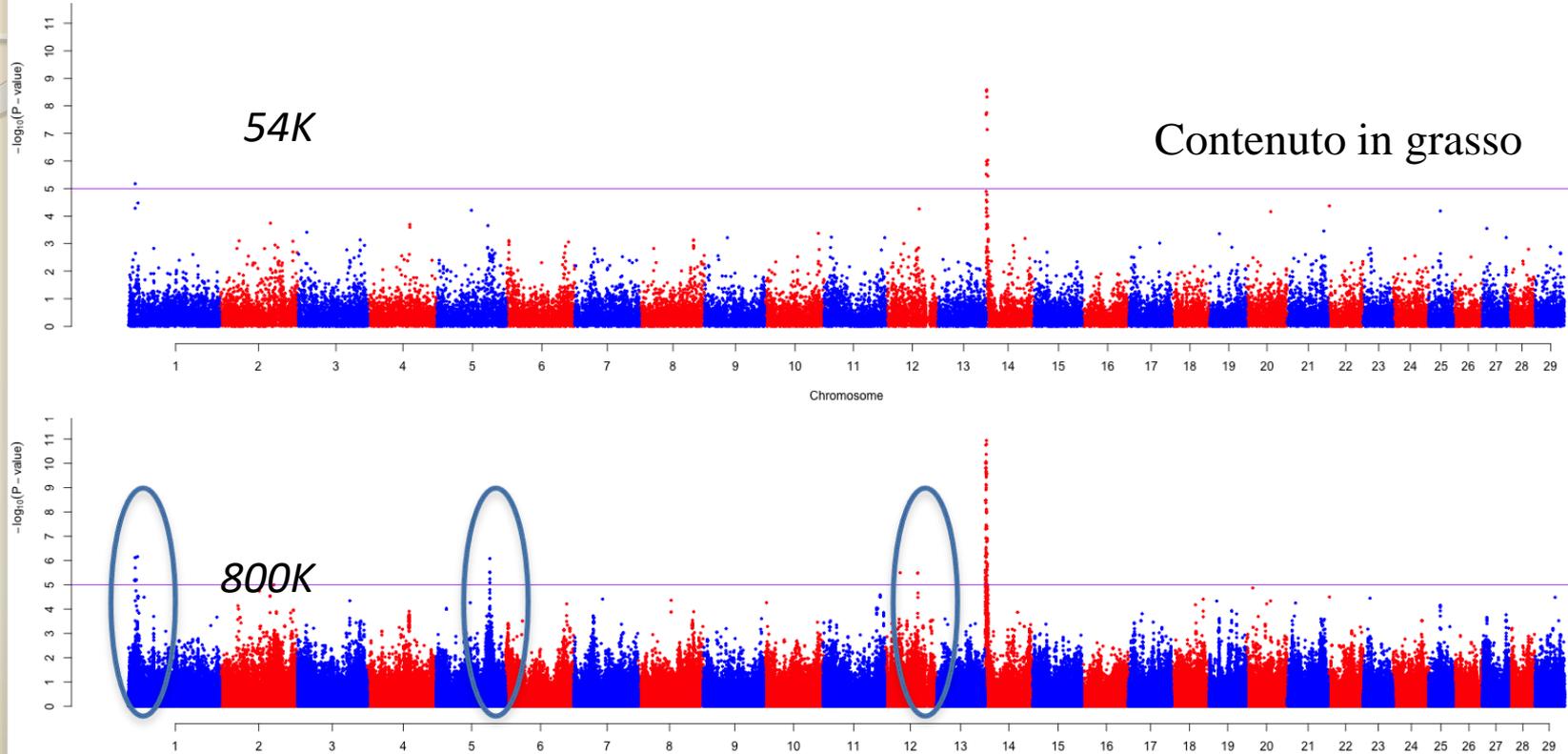
Genetic variation and effects of candidate-gene polymorphisms on coagulation properties, curd firmness modeling and acidity in milk from Brown Swiss cows

A. Cecchinato^{1†}, S. Chessa², C. Ribeca¹, C. Cipolat-Gotet¹, T. Bobbo¹, J. Casellas³ and G. Bittante¹

¹Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padova,
²Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), via Einstein, 26900 Lodi, I
Aliments, Grup de Recerca en Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain



Genome-Wide Association Studies (GWAS)



Comparison between 800k and 54k in GWAS for production and morphologic traits in Italian Holstein.
Capomaccio et al. (2013) XX Congresso ASPA – 11-13 giugno, Bologna

GWAS per caratteri legati alla caseificabilità



J. Dairy Sci. 98:1273–1285
<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8137>
© American Dairy Science Association®, 2015.

Bovine chromosomal regions affecting rheological traits in acid-induced skim milk gels

BovineHD SNPchip – 377 Swedish Red
CSN3, LGB, RAB22A, CDH13, STAT1

M. Glantz,* F. Gustavsson,* H. P. Bertelsen,† H. Stålhammar,‡ H. Lindmark-Månsson,*§ M. Paulsson,*
C. Bendixen,† and V. R. Gregersen†¹

*Department of Food Technology, Engineering and Nutrition, Lund University, PO Box 124, SE-221 00 Lund, Sweden

†Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science and Technology, Aarhus University, Blichers Allé 20, PO Box 50, DK-8830 Tjele, Denmark

‡VikingGenetics, PO Box 64, SE-532 21 Skara, Sweden

§Lantbrukarnas Riksförbund Dairy Sweden, Ideon Science Park, SE-223 70 Lund, Sweden

Segnali per i caratteri legati alla caseificabilità → cromosoma 6 e 11

Session 37

Theatre 11

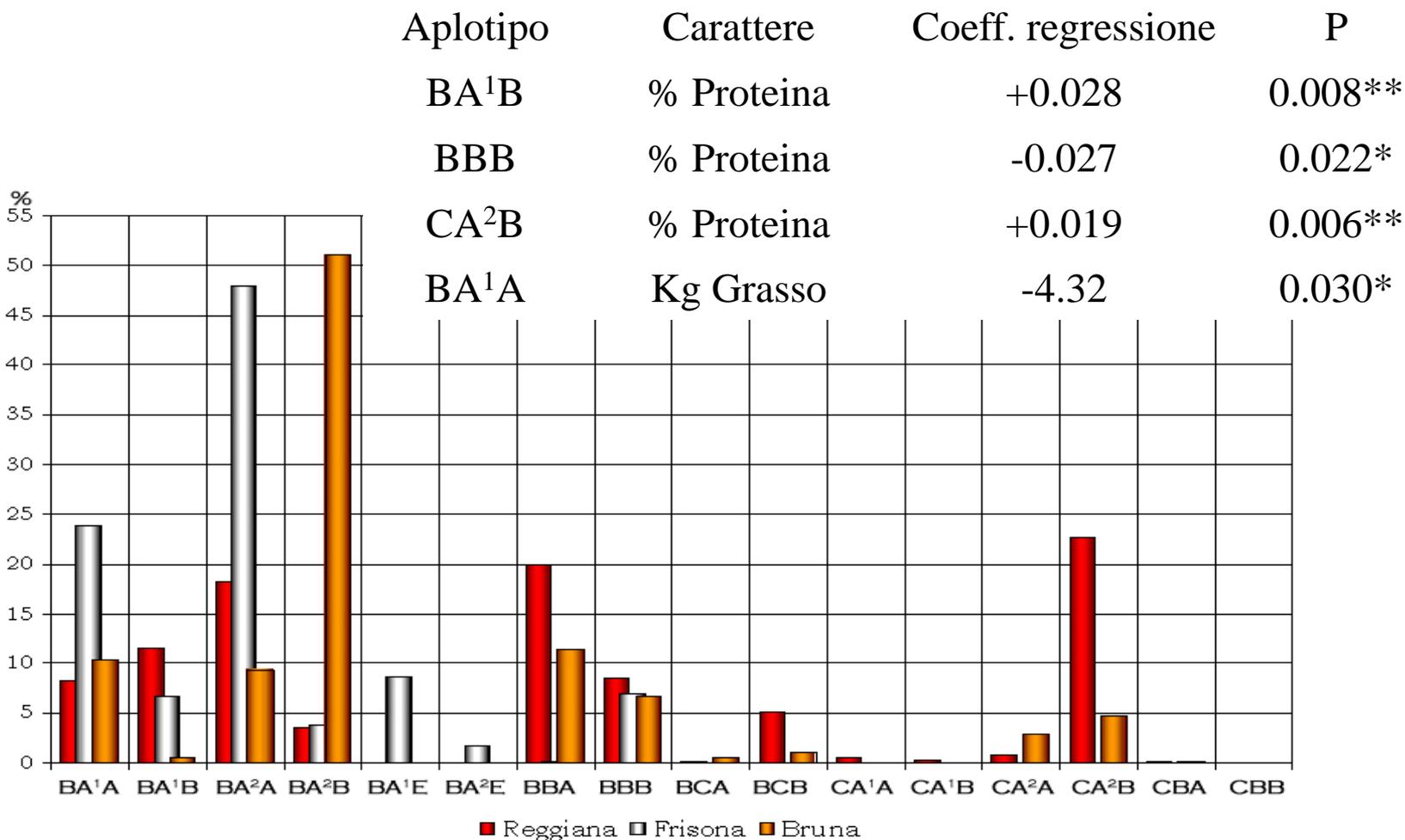
Bovine SNP50 Beadchip v2
1,264 Brown Swiss
88 SNP in 10 chromosomes
BTA6 & BTA11 most significant

Genome-wide association study for cheese yield and curd nutrients recovery in bovine milk

C. Dadousis¹, C. Cipolat-Gotet¹, S. Biffani², E.L. Nicolazzi³, G. Rosa^{4,5}, D. Gianola^{4,5}, G. Bittante¹ and A. Cecchinato¹

¹University of Padova, Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment (DAFNAE), Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro, Italy, ²IBBA, CNR, Via Einstein, Loc. Cascina Codazza, 26900 Lodi, Italy, ³PTP, Department of Bioinformatics, Via Einstein- Loc. Cascina Codazza, 26900 Lodi, Italy, ⁴University of Wisconsin-Madison, Department of Biostatistics and Medical Informatics, Madison Wisconsin, 53706, USA, ⁵University of Wisconsin-Madison, Department of Animal Sciences, Madison Wisconsin, 53706, USA; christos.dadousis@studenti.unipd.it

Effetto degli aplotipi caseinici nella Reggiana



CSN1S1-CSN2-CSN3

Results: Allele and haplotype frequencies

Gene	Allele	Frequency	CSN1S1	CSN2	CSN1S2	CSN3	Frequency
CSN1S1	B	1.000 0.996	B	A ²	A	A	0.5000 0.4887
	C	0.004	B	A ¹	A	A	0.2551 0.2176
CSN2	A ¹	0.367 0.359	B	A ¹	A	E	0.0714 0.0678
	A ²	0.541 0.544	B	A ¹	A	B	0.0306 0.0643
	A ³	0.002	B	B	A	B	0.0612 0.0609
	B	0.061 0.062	B	A ²	A	B	0.0306 0.0506
	I	0.031 0.032	B	I	A	B	0.0306 0.0324
CSN1S2	A	0.990 0.989	B	A ¹	D	B	0.0102 0.0093
	D	0.010 0.011	B	A ²	A	E	0.0102 0.0015
CSN3	A	0.755 0.711	B	B	A	A	0.0015
	B	0.163 0.220	C	A ²	A	A	0.0015
	E	0.082 0.070	C	A ³	A	A	0.0015
LGB	A	0.533	B	A ²	D	B	0.0010
	B	0.466	C	A ²	A	B	0.0005
			C	A ²	A	E	0.0005
			C	A ³	D	B	0.0005

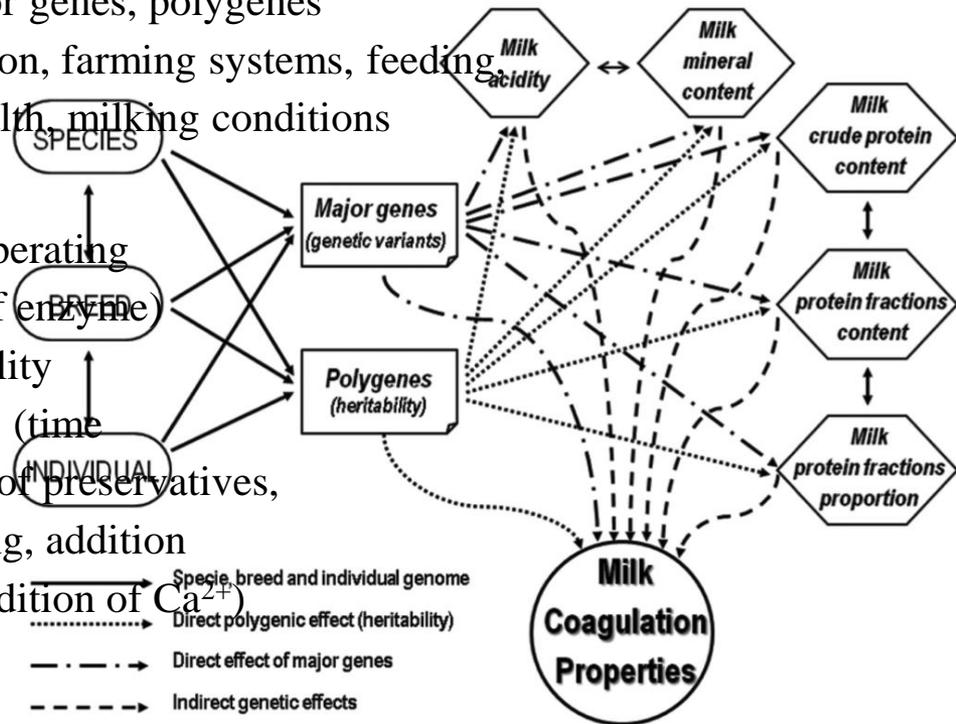
MCP source of variation

A. Milk quality (chemical composition, physical properties, microbiome, contaminants)

- Genetic: species, breed, major genes, polygenes
- Environmental: climate, season, farming systems, feeding hygiene, health, milking conditions

B. Analysis

- instrument type and setup (operating temperature, amount/form of enzyme)
- repeatability and reproducibility
- pretreatment of milk samples (time interval since sampling, use of preservatives, storage conditions, preheating, addition of starter, pH adjustment, addition of Ca^{2+})



Bittante et al. (2012) J. Dairy Sci. 95:6843–6870.

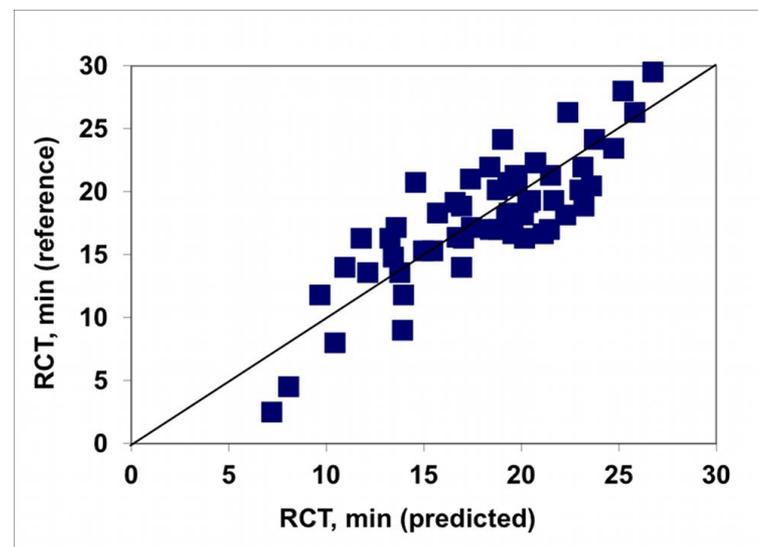
Use of FTIR to predict MCP

Set up

- 1. Milk samples collection
- 2. Spectra collection
- 3. Lactodynamography
- 4. Mathematical mathematical
 - pre-treatment of spectra
- 5. Calibration using appropriate algorithms
- 6. Validation

Routine

1. Spectra collection
2. Trait Prediction



Chessa et al. (2014) J. Dairy Sci. 97:4512–4521.

Advantages of NIR and MIR spectroscopy

1. require **little or no sample pretreatment**
2. are non-destructive
3. do **not** require **chemicals or other consumables**
4. the spectra are obtained very **rapidly** and often automatically
5. the spectra can be easily stored and retrieved at farm, industry, etc.
6. simplified instruments can monitor continuously “at line” food processing
7. data contained can **reflect** both **physical states** and **molecular structures**
8. with proper calibrations, one spectrum can be used for several traits prediction
9. provide a “**fingerprint**” that can be useful in describing quality and typicality of food
10. when a **new calibration** is available stored spectra can be **re-evaluated** (no longer physically available sample; non need to store samples)

Take Home Message

- For coagulation traits an **exploitable genetic variation** exists
- **Different mechanisms** are involved in the coagulation phases and a number of “old” and new phenotypes are being measured to verify which ones are the best for improving the cheese-making aptitude of milk
- **Assessment** of these traits is **difficult** to be carried out routinely on large scale
- The FTIR method is **useful** to phenotype rapidly and cheaply coagulation traits
- Calibration curve, prediction models and EBV can be ameliorated **increasing the number of spectra registered**
- The **effects of genes** related to milk synthesis can be used to improve the cheese making aptitude of dairy cows

Qualità tecnologica: trasformazione casearia

- Nel nostro Paese l'importanza dei derivati del latte è indiscutibile
 - quasi l'**80%** del latte viene destinato alla caseificazione
 - il **55%** è utilizzato per la produzione di formaggi a denominazione di origine (**DOP**): ad oggi i formaggi DOP in Italia sono 35 (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, 2011)

- I processi di **caseificazione** sono caratterizzati da un trasferimento molto elevato e **non selettivo** dei nutrienti del latte al formaggio, pertanto, la **qualità nutrizionale** del latte influenza fortemente la **qualità del formaggio**



Proteine del latte e allergie

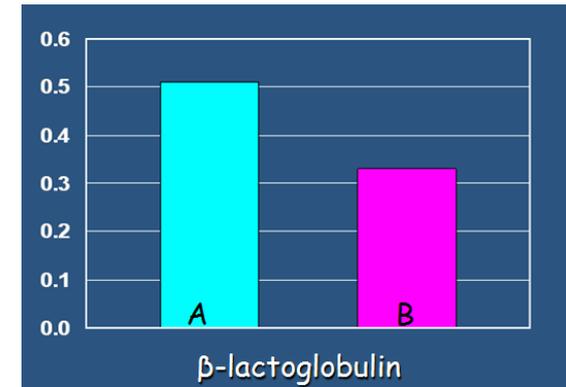
- I principali alimenti che causano allergie sono
 - Lattanti: latte, soia, uova, arachidi (USA)
 - Bambini: pesce, crostacei, grano, noci (in aggiunta alle precedenti)
 - Adulti: pesce, crostacei, grano, frutta a guscio
- L'allergia alimentare sopravvive:
 - nel 71% degli individui allergici fino a 3 anni
 - nel 50% degli individui allergici fino a 6 anni
 - nel 28% degli individui allergici fino a 9 anni
- Il latte vaccino contiene più di 30 proteine; le più allergeniche sono:
 - β -lattoglobulina
 - Caseine (soprattutto le α s-caseine)



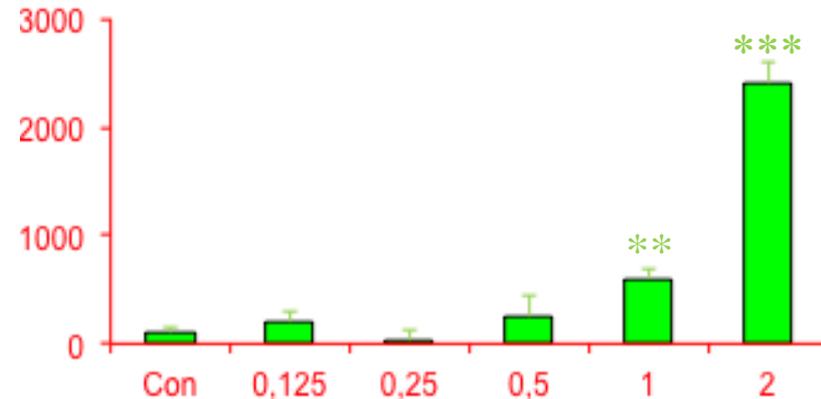
Biopeptidi del latte

- Peptidi in grado di potenziare l'attività delle incretine (regolazione di glicemia e peso corporeo) nella β -lattoglobulina

LIVTQTMKGL DIQKVAGTWY **S**LAMAASDIS **LL**DAQSAPLR
 VYVEELKPTP EGDLEILLQK WENGECAQKK IIAEKTK**I**PA
 VFKIDALNEN KV**L**VLDTDYK KY**LL**FCMENS AEPEQS**L**ACQ
 C**L**VRTPEVDD EALEKFDKAL K**AL**PMHIRLS FNPTQLEEQC
 HI



- Peptidi che stimolano in modo selettivo l'attività di colecistichina (CKK, coinvolto nella digestione e nel senso di sazietà)



Allergia al latte bovino

Epitopo	α_{S1} -cn bovina	α_{S1} -cn caprina	Alleli α_{S1} -cn caprina
1 [^] mag.	NENLLRF F VAPFPEV F G KE K	NENLRF V VAPFPEV F R KE N	A, B, C, D, E, F
2 [^] mag.	KEDVPSERYLGYLEQ L RLK	KEDVPSERYLGYLEQ L RLK	A, B, D, F
	KEDVPSERYLGYLEQ L RLK	KEDVPSERYLGYLEQ L KLK	C
	KEDVPSERYLGYLEQ L RLK	-----E Q LL K LK	E
3 [^] mag.	LEIVP N SAEE R L	LEIVP K SAEE Q L	A, B, C, D, E, F
4 [^] mag.	NQELAYFY P ELFR Q F	NQELAYFY P QLFR Q F	A, B, C, D, E, F
5 [^] mag.	Y PS G A W Y Y V P L G T Q Y	Y PS G A W Y Y V P L G T Q Y	A, B, C, D, E, F
6 [^] mag.	YTDAPSFSDIPNPIG S ENSE E K T	YTDAPSFSDIPNPIG S ENSE G K T	A, B, C, D, F
	YTDAPSFSDIPNPIG S ENSE E K T	YTDAPSFSDIPNPIG S ENSE G K A	E
1 [^] min.	E LS K D I G S E S	E LS K D I G S E S	A, B, C, D, E, F
2 [^] min.	EEIVPNS V EQ	EEIVPNS A EQ	B, C, D
	EEIVPNS V EQ	EEIVPNS A QQ	A
	E EIVPNS V EQ	-EIVPNS A EQ	F
	E EIVPNS V EQ	-----	E
3 [^] min.	MKEG I H A Q Q K	MKEG N P A H Q K	A, B, C, D, E, F