

## RESUMEN

**Polimorfismo genético en caprino. Estudio de los genes de la kappa caseína, de la beta-lactoglobulina, y de la *stearoyl coenzyma A desaturase*.** Mediante la técnica BESS de detección de mutaciones y secuenciación, se ha estudiado el polimorfismo genético en varias razas caprinas españolas, francesas y italianas. Las regiones analizadas fueron la región promotora y el inicio del exón 1 para el gen de la *beta-lactoglobulina* ( $\beta$ -LG), la totalidad de la region codificante de la kappa caseína ( $\kappa$ -CN) incluida en los exones 3 y 4, y la totalidad del exón 5 de la *stearoyl coenzyma A desaturasa* (SCD).

Un total de diez mutaciones, de los cuales 4 son sinónimas (una en el exón 3 y tres en el exón 4), han sido detectadas en la región codificante del gen de la kappa caseína. Las otras seis mutaciones producen cambios amino acídicos, resultando en siete variantes genéticas, denominadas A, B, C, D, E, F, y G. Un protocolo de genotipado de todas las variantes ha sido desarrollado, utilizando la técnica de *primer extension analysis*. Los alelos A y B son los más comunes, presentes en la mayoría de las razas analizadas siendo la variante B la predominante en todas ellas, con la excepción de la raza Canaria donde el alelo A es lo más presente. La variante F es especialmente presente en la cabra pirenaica. La comparación de las secuencias sugiere que el alelo F es probablemente el alelo ancestral de la kappa caseína. Los otros alelos derivaron de este tipo original según dos trancos distintos.

El análisis de la  $\beta$ -LG muestra la presencia de una mutación en la región proximal del promotor (posición -60 desde el inicio de la transcripción). Las frecuencias observadas de este polimorfismo son similares en las razas analizadas (Murciano-Granadina, Malagueña, Payoya, y Saanen) excepto la *Canaria* donde este polimorfismo está ausente, lo cual puede estar relacionado con el origen diferente de esta raza. La secuencia obtenida del ADNc de la SCD caprina contiene un marco de lectura de 1080 pb que codifica para una proteína de 359 aminoácidos y un codon de terminación TGA, así como las regiones non codificantes 5' y 3' de 172 y 654 pb respectivamente. La secuencia nucleotídica de la región codificante es muy similar a la observada en ovino (98%) y en bovino (95%). La unidad de transcripción del SCD caprino es del orden de 15 Kb. La organización estructural del gen es muy similar a las descritas en roedores y en humano, y consiste en 6 exones y 5 intrones. Varias posiciones polimórficas han sido detectadas en el exón 5 y la región 3' no codificante. El polimorfismo tipo RFLP en la posición 931 del ADNc ha sido utilizado para mapear el gen mediante el análisis de ligamiento en el cromosoma 26q13-q21.

## ABSTRACT

**Genetic polymorphism in goat. Study of the kappa casein, the beta-lactoglobulin, and the stearyl coenzyme A desaturase genes.** Polymorphism in the goat specie was studied among different Spanish, French, and Italian breeds using the BESS T-Scan method and sequencing. The analysed regions are located in the promoter region and exon 1 of the *beta-lactoglobulin* gene ( $\beta$ -LG), the full coding region of the *kappa casein* ( $\kappa$ -CN) gene (exons 3 and 4), and the exon 5 of the *stearyl coenzyme A desaturase* (SCD) gene.

A total of ten mutations were detected in the kappa casein coding region by using BESS method and sequencing. Four are synonymous mutations (three in exon 4 and one in exon 3) whereas other six produce amino acid changes. All these non-synonymous mutations, located in exon 4, are single nucleotide transitions. The association between the different mutations (*haplotypes*) resulted in seven genetic variants, designated  $\kappa$ -casein A, B, C, D, E, F, and G. A procedure for rapid and simultaneous genotyping for all  $\kappa$ -casein variants was developed. The method is based on primer extension analysis coupled with capillary electrophoresis and fluorescent detection. Kappa casein A and B are the most common variants found in several Spanish, French, and Italian breeds. Variant B is predominant in all these breeds, with the exception of the Canaria breed, where variant A is prevalent. The F variant is predominant in the Spanish wild type goat *Capra pyrenaica sp. hispanica*. Comparative sequence data suggest that the F variant is most likely the original type of kappa casein in caprine specie. Other variants were derived from this allele by successive mutations following two different trunks.

A single nucleotide polymorphism was detected by BESS method in the proximal promoter region of the *b-LG* gene. However, this mutation is not located in the sequence recognition of any known transcription factor. The polymorphism is found in Murciano-Granadina, Malagueña, Payoya, and Saanen, but it absent in the Canaria breed. This difference may be explained by the different origin of this breed.

The goat SCD cDNA was isolated and characterized. The open reading frame contains 1077 nucleotides encoding for a mature protein of 359 amino acids, with a high level of similarity with ovine (98%) and bovine (95%) homologues. The structural organization of the caprine *SCD* gene is similar to those of rodents and human. It spans approximately 15 Kb and consists of six exons and five introns. Several single nucleotide polymorphisms were detected in the coding region (exons 5 and 6) and in the 3'-untranslated region. A PCR-RFLP protocol for genotyping the SNP at position 931 of the cDNA was developed. The polymorphism was used to map the caprine *SCD* gene by linkage analysis to CHI 26q13-26q21.