PROPRIETES GENERALES

Les propriétés physico-chimiques des caséines alphas₁, bêta et kappa

par

T. A. PAYENS*

Résumé

La tendance forte des caséines principales (α_{s1} , α_{s2} , β et K) de s'associer en solution aqueuse est bien connue et s'explique en grande partie par la teneur élevée en amino-acides apolaires. Néanmoins, la façon dont elles forment ces structures « quaternaires » est bien divergente : l'association des caséines α_{s1} et α_{s2} conduisant à des oligomères consécutifs, tandis que β et K forment des micelles d'un degré d'association assez élevé.

Cette conduite différente résulte des différences entre les structures primaires de ces protéines : les séquences des amino-acides des caséines β et K leur confèrent le caractère d'une substance tensio-active, possédant la propriété de former des micelles en solution. D'autre part, la structure primaire de la caséine α_{s1} montre une distribution plus ou moins égale des acides aminés apolaires et chargés le long de la chaîne peptidique. Quoique sa teneur en résidus apolaires ne soit pas différente de celle de la caséine K, il en résulte une conduite d'association bien distincte.

L'association de la caséine α_{s2} est caractérisée par la formation des liaisons salines. L'origine de cette interaction électrostatique est située dans la répartition inégale des charges positives et négatives le long de la chaîne peptidique.

Les expériences physico-chimiques, permettant d'établir ces différents mécanismes d'association, ont été résumées. L'importance

* Institut néerlandais de recherches laitières, B.P. 20, 6710 Ba Ede (Pays-Bas).

des associations pour la stabilité des micelles natives de la caséine entière dans le lait a été brièvement traitée.

Summary

The strong tendency of the caseins to associate in aqueous solution can be explained mainly by the relatively high proportion of apolar amino acid residues. The way in which they form these «quaternary» structures is, however, quite different: the association of α_{s1} and α_{s2} casein leading to consecutive oligomers, where as β and K form micelles of a rather high degree of association.

The different behaviour can be traced back to the differences in primary structure of these proteins: the sequences of β and K casein endow them with the properties of a surface-active agent, which forms micelles in solution. The primary structure of α_{s1} casein, on the other hand, shows a more or less even distribution of the charged and apolar residues along the peptide chain. Although its overall hydrophobicity is not very different from that of K , the resultant association is quite different from that of β and K .

The association of α_{s2} casein is characterized by the formation of salt linkages. The electrostatic interaction finds its origin in the uneven distribution of positively and negatively charged residues along the peptide chain.

The physico-chemical evidence, which permit these different association mechanisms to be established, is summarized. The significance of casein association with relation to the stability of the native micelle in milk, is briefly discussed.

INTRODUCTION

Il est de notoriété publique que toutes les protéines ont une tendance prononcée à s'associer en solution. Cette tendance s'explique par le nombre relativement grand et la diversité des groupes latéraux sur la surface protéique, qui sont capables de former des liaisons hydrogènes, hydrophobes ou salines (Yon, 1969). Par conséquent, la grande majorité des protéines globulaires existe en solution aqueuse sous forme d'oligomères, c'est-à-dire de complexes d'un nombre restreint de sous-unités. A cet égard la conduite de la β -lactoglobuline, protéine principale du lactosérum, est typique de la plupart des protéines : elle forme des tétramères d'une masse moléculaire d'environ 144 000 (Mc Kenzie, 1971).

De nombreuses recherches ont démontré que la masse moléculaire des particules colloïdales de la caséine dans le lait (les

« micelles natives ») est beaucoup plus élevée. Par exemple, la masse moléculaire moyenne en poids, qu'on détermine par la technique de diffusion de la lumière, est de l'ordre de 10^6 , correspondant à un rayon d'environ 124 nm (Schmidt *et al.*, 1974). Quand on se rend compte que les masses moléculaires des différents composants protéiques de ces particules sont proches de 20-25 000, il en résulte que le degré d'association des caséines dans le lait est énorme en comparaison de celui des protéines globulaires.

La cohésion et la stabilité des micelles natives s'expliquent d'une part par la présence de quelques éléments inorganiques, avant tout des ions Ca^{++} et du phosphate, mais résultent d'autre part de la composition en et de la séquence des amino-acides des différentes caséines elles-mêmes : de nombreuses expériences (Schmidt et Payens, 1976) ont démontré que les caséines s'associent également en solution, en l'absence de ces éléments inorganiques.

Ci-après, j'évoquerai d'abord les associations des caséines individuelles. Ensuite, nous discuterons brièvement de l'importance de ces associations par rapport à notre connaissance de l'action protectrice de la caséine K et à la stabilité des micelles natives, telles qu'elles existent dans le lait.

COMPARAISON DES HYDROPHOBICITES DES CASEINES

α_{s1} , β ET K

Il est à peine nécessaire, devant un auditoire comme celui-ci, de mentionner que la caséine est une protéine hétérogène. Il suffit de résumer quelques propriétés caractéristiques de ses composants (tab. 1). Comme on voit, la teneur en phosphate esterifié varie

TABLEAU 1

Propriétés caractéristiques des caséines α_{s1} , α_{s2} , β et K (PAYENS et VREEMAN, 1982)

Caséine	Pourcentage	Masse moléculaire	Nombre de résidus phosphoséryles	Concentration limite de Ca^{++} (mM) permettant la solubilité
α_{s2}	11	25 300	10-13	1
α_{s1}	38	23 600	8-9	2
β	38	24 000	5	9
K	13	19 000 *	1-2	400

considérablement parmi les différentes caséines ; évidemment elle détermine la solubilité en présence du calcium.

En 1956, les scientifiques américains (Waugh et von Hippel, 1956) ont démontré qu'en fait la caséine K stabilise les autres caséines vis-à-vis du calcium, en formant des complexes solubles. La figure 1 en donne un exemple.

fig. 1

Solubilisation de la caséine α_{S1} par K, d'après ZITTLE. Concentration en caséine α_{S1} : 3 g/l ; 0,02 M CaCl_2 , pH 6,7 ; 30° C.

Les séquences en amino-acides (structures « primaires ») des différentes caséines sont, grâce aux efforts de quelques scientifiques

français (Ribadeau Dumas *et al.*, 1975 ; Brignon *et al.*, 1976), bien connues aujourd'hui. Pour le physico-chimiste, l'intérêt de la connaissance de la composition et de la séquence des amino-acides tient à la compréhension des propriétés physiques, dans notre cas surtout de la conduite d'association. Par exemple, déjà en 1954, David Waugh a fixé notre attention sur la teneur très élevée en résidus apolaires de la caséine β , ce qui explique, comme nous le verrons, la façon exceptionnelle dont elle s'associe, de même que le coefficient de température positif de cette association (Yon, 1969 ; Schmidt et Payens, 1976).

Outre cela, le tableau 2 montre que la répartition des résidus apolaires (exprimée ici comme l'hydrophobicité selon Bigelow (1967) n'est pas uniforme le long de la chaîne peptidique. Comme on le voit, l'extrémité COOH-terminale de la caséine β est très hydrophobe et ne contient presque pas de résidus chargés. Par contre, la région NH₂-terminale est beaucoup moins apolaire à cause de la présence des charges négatives, provenant de l'ionisation des résidus glutamyles et phosphoséryles.

La répartition des résidus chargés et hydrophobes de la chaîne peptidique de la caséine K est comparable à celle de la caséine β : on trouve une région très apolaire entre les résidus 20 et 80 de la paracaséine (les résidus 1-105), tandis que l'hydrophobicité de la partie dite caséino-macropéptidique (les résidus 106-169) est proche de celle de l'extrémité NH₂-terminale de la caséine β . D'ailleurs, la répartition inégale de l'hydrophobicité le long de la chaîne peptidique de la caséine K est déjà démontrée d'une façon convaincante par la coagulation du lait par la présure. Celle-ci libère, comme vous le savez, le caséino-macropéptide bien soluble, tandis que la coagulation de la paracaséine et son coefficient de température sont caractéristique d'une substance hydrophobe (Payens et Brikhuis).

Les répartitions inégales des résidus chargés et hydrophobes dans les chaînes peptidiques des caséines β et K confèrent à ces protéines le caractère d'un détergent. On sait depuis longtemps (Tanford, 1980), que les détergents en solution forment des micelles, c'est-à-dire que leur association suit le schéma :

où la valeur de n est plus ou moins unique et assez élevée.

Une des caractéristiques de la formation de micelles est l'existence d'une concentration critique micellaire (CCM), au-dessous de laquelle on n'observe pas du tout de molécules associées. L'apparition des micelles commence brusquement quand la concentration du détergent surpasse la CCM. Nous verrons plus tard que cette conduite est retrouvée chez les caséines β et K, confirmant ainsi leur nature « ampholyte ».

Une autre propriété caractéristique des détergents est le pouvoir de solubiliser des substances autrement insolubles au sein hydro-

TABLEAU 2

Séquence des hydrophobicités (1) et des charges (2) des caséines α_{S1} , β et K

Séquence	α_{S1} -B		β -A ²		K-B	
	charge	hydrophobicité (kJ/rés)	charge	hydrophobicité (kJ/rés)	charge	hydrophobicité (kJ/rés)
1-20	+ 2,8	4,9	— 9,6	3,5	— 3	3,1
21-40	+ 1,0	6,3	— 1,3	3,6	+ 3	7,6
41-60	— 6,7	2,7	— 2,5	4,3	+ 1	7,0
61-80	— 10,2	3,0	0	6,8	+ 2	5,75
81-100	— 1,0	5,3	0	6,3	+ 2	3,7
101-120	+ 1,7	5,8	+ 2,4	6,7	+ 1,5	5,9
121-140	+ 0,9	3,5	— 2,6	5,1	— 3	4,1
141-160	— 2,0	7,1	+ 0,8	5,9	— 5,7	4,6
161-180 (3)	— 1,0	5,4	+ 1,0	5,9	— 1	3,3
181-200 (4)	— 3,0	4,8	0	6,4		
201-209			0	8,3		
Total	— 17,5	4,9	— 11,8	5,7	— 3,2	5,1

(1) Estimées selon BIGELOW, 1967.

(2) pH7.

(3) Résidus 161-169 chez la caséine K.

(4) Résidus 181-199 chez la caséine α_{S1} .

phobe de la micelle. C'est de cette façon que la solubilisation de la caséine α_s , par K en présence du calcium (voir la fig. 1) a été interprétée par Payens et Vreeman, 1982.

Considérons ensuite la structure primaire de la caséine α_s (tab. 2). Ici, la distribution de l'hydrophobicité le long de la chaîne peptidique est plus ou moins égale. Quoique l'hydrophobicité totale de 4,9 kJ/rés. soit très proche de celle de la caséine K, il en résulte une conduite d'association complètement différente, comme nous le verrons.

Finissons cette revue par l'observation que la teneur en proline de toutes les caséines est assez élevée (Garnier *et al.*, 1968). Par suite de sa rigidité stéréochimique et de la perte de l'hydrogène de l'azote participant à la liaison peptidique, cet amino-acide perturbe la formation d'une structure secondaire compacte (Yon, 1969). Notamment les expériences d'Herkovits (1966) ont démontré que les caséines en solution adoptent les conformations peu serrées d'une pelote statistique. Par conséquent, les nombreux groupements hydrophobes des caséines sont beaucoup plus exposés que chez les protéines globulaires, ce qui explique la tendance forte de s'associer.

L'ASSOCIATION DE LA CASEINE β

Les nombreux travaux sur l'association de cette composante de la caséine entière ont été résumés récemment (Payens et Vreeman,

fig. 2

Diagramme de sédimentation de la caséine β , d'après HOAGLAND, PAYENS et VREEMAN, 1982. Tampon phosphate-KCl, pH 6,86 ; $I = 0,20$; 20°C .

fig. 3

L'influence de la force ionique sur la concentration critique micellaire de la caséine β . Tampon phosphate-NaCl, pH 7 : Technique : diffusion de la lumière.

1982). Je me bornerai ici aux expériences fournissant les preuves de la formation de micelles, c'est-à-dire de l'existence d'une CCM et d'un degré d'association élevé et limité.

1. Le diagramme de sédimentation de la caséine β en milieu provoquant l'association, ne montre que deux pics largement séparés, qui correspondent aux espèces monomère et micellaire (fig. 2).

TABLEAU 3

Paramètres thermodynamiques de la formation de micelles
de la caséine β à 21° C (PAYENS et VREEMAN, 1982)

Force ionique	CCM (g/l)	Masse moléculaire de la micelle	Degré d'association
0,2	0,50	552 000	23
0,05	0,74	312 000	13

2. La variation de la masse moléculaire en fonction de la concentration protéique révèle d'une manière convaincante l'existence de la CCM (fig. 3 ; Garnier *et al.*, 1968).

3. L'analyse quantitative de l'influence de la concentration sur la masse moléculaire moyenne en poids, mène également à la conclusion que le degré d'association des micelles formées est assez élevé (voir le tab. 3).

L'influence de la température sur la formation de micelles de la caséine β est remarquable. A 4° C la caséine β est complètement dépolymérisée, mais elle se polymérise fortement quand la température augmente (fig. 2 ; tab. 3). Cette conduite est très typique de la formation de liaisons hydrophobes, qui d'après les recherches de Kauzmann et de Némethy et Scheraga, est endothermique (Yon, 1969). Aussi est-elle de concert avec la teneur élevée en résidus apolaires de la caséine β , mentionnée ci-dessus.

L'ASSOCIATION DE LA SH-CASEINE K

L'association de cette caséine importante a été traitée récemment par Vreeman *et al.*, 1982, 1981. Après ce qui a été mentionné ci-dessus à propos de la nature ampholyte de la chaîne peptidique de K et son pouvoir solubilisant envers les autres caséines, il n'est pas surprenant que la caséine K s'associe également en formant des micelles. Les expériences de Vreeman *et al.*, 1981 qui ont mené à cette conclusion, peuvent être résumées comme suit.

1. Comme nous l'avons vu chez la caséine β , le diagramme de sédimentation ne montre que deux pics, correspondant respectivement au monomère et à la micelle (fig. 4).

2. La masse moléculaire de cette micelle, déterminée par ultracentrifugation selon la méthode d'Archibald (Tonnelat, 1973), correspond à un degré d'association de 30.

fig. 4

Diagramme de sédimentation de la caséine K, d'après VREEMAN *et al.*, 1982. Tampon 0,005 M EDTA-0,1 M NaCl-0,001 MDDT, pH 7,0. Concentration en protéine : 5,1, 3,5 et 1,4 g/l respectivement.

fig. 5

Graphique de Trautman concernant l'association de la caséine K, d'après VREEMAN *et al.*, 1981. Tampon : voir figure 4.

Vitesse de rotation : $\circ$ = 4 800, $\blacksquare$ = 6 000, $\triangle$ = 7 200, $\times$ = 9 000, $\circ$ = 12 000 et $\blacksquare$ 15 000 t/min.

L'évidence d'une CCM découle de la discontinuité du graphique.

3. Le graphique de Trautman (Vreeman *et al.*, 1981), représentant ces expériences selon Archibald, montre très distinctement l'existence de la CCM (fig. 5).

De plus, Vreeman *et al.*, 1981 ont conclu de l'influence de la concentration sur la vitesse de sédimentation et de la viscosité intrinsèque, que les micelles sont des particules sphériques d'un rayon d'environ 11 nm. De cette dernière valeur et de la masse moléculaire de la micelle il résulte un volume spécifique de 6,7 ml/g, donc presque dix fois la valeur qu'on rencontre normalement chez les protéines globulaires. Ceci indique que la micelle de la caséine K est un globule bien hydraté avec un intérieur lâche, ce qui expliquerait, d'après Vreeman *et al.*, son pouvoir solubilisant envers les autres caséines.

L'ASSOCIATION DES CASEINES α_s

L'association de la caséine α_{s1} a été étudiée au moyen des techniques de l'ultracentrifugation et de la diffusion de la lumière (Tonnelat, 1973). La tendance de s'associer est très forte et comparable aux caséines β et K. Néanmoins, elle ne forme pas de micelles comme celles-ci, mais l'association est caractérisée par des équilibres consécutifs et par la présence d'intermédiaires d'un degré d'association modeste.

La preuve la plus convaincante de cette conduite différente est de nouveau fournie par le diagramme de sédimentation (fig. 6). Celui-ci ne montre qu'un seul pic asymétrique d'un coefficient de sédimentation élevé, conformément à la prévision théorique pour le cas de la sédimentation d'un mélange de polymères consécutifs en équilibre rapide (Payens et Schmidt, 1966).

Des paramètres thermodynamiques de l'association, Schmidt (1969) a déduit que l'association de la caséine α_{s1} est accompagnée en premier lieu de la formation de liaisons hydrophobes entre les monomères.

L'association de la caséine α_{s2} a été étudiée par Snoeren *et al.*, (1980) en utilisant les méthodes de la diffusion de la lumière et de la viscosimétrie. La caractéristique principale de cette association est qu'elle se produit par la formation des liaisons salines entre les unités monomères. Par conséquent, l'association est influencée sensiblement par la force ionique du milieu. L'origine de cette interaction électrostatique est située dans la répartition inégale des charges positives et négatives le long de la chaîne peptidique de cette caséine (Brignon *et al.*, 1976).

fig. 6

Comparaison du diagramme de sédimentation expérimental et théorique de la caséine α_{s1} .

Concentration en protéine 2,33 g/l. Tampon barbiturate pH 6,6, $I = 0,20$; 9° C, d'après PAYENS et VREEMAN, 1982.

LE RÔLE DES ASSOCIATIONS PROTÉIQUES DANS LA STABILISATION DES MICELLES NATIVES

Plusieurs auteurs (Schmidt et Payens, 1976 ; Payens et Vreeman, 1982 ; Garnier *et al.*, 1968 ; Waugh, 1971) ont souligné l'importance des associations des caséines pour la stabilisation de la micelle native dans le lait. En effet, les études décrites ci-dessus ont démontré clairement le rôle prépondérant des liaisons hydrophobes

dans les structures quaternaires de ces protéines. Il est difficile de s'imaginer qu'elles ne contribuassent pas également à la structure de la micelle native. De plus, l'importance des liaisons apolaires sur la coagulation des micelles par la présure a été démontrée récemment (Payens et Brinkhuis).

La structure lâche des micelles de la caséine K, proposée par Vreeman *et al.*, (1981), suggère que l'action protectrice de cette protéine envers les autres caséines, soit comparable à l'action solubilisante des détergents. D'après cette hypothèse, les caséines insolubles se trouveraient au sein de la micelle de la caséine K. Dans cet ordre d'idées, il me faut mentionner quelques observations

fig. 7

Microscopie électronique des micelles reconstituées des caséines α_{S1} et K, d'après SCHMIDT et BOTH, 1982.
Coupes minces colorées à l'or colloïdal.

Conditions expérimentales : 30 mM CaCl_2 ; rapport $\text{K}/\alpha_{S1} = 1/3$.

A. Marquage exclusif de la caséine K.

B. Marquage exclusif de la caséine α_{S1} .

récentes de Schmidt et Both (1982) au microscope électronique. Ces auteurs ont préparé des complexes de caséine α_{s1} et K en présence de calcium en marquant un des constituants à l'or colloïdal. Lorsque la caséine K était marquée, l'or se trouvait exclusivement seul à la surface des micelles (fig. 7 A), confirmant la localisation périphérique de cette protéine. Au cas de marquage exclusif de la caséine α_{s1} , la coloration est retrouvée au sein des particules (fig. 7 B).

Quelque intéressantes que soient les recherches décrites pour notre connaissance de la stabilité de la micelle native, il ne faut jamais oublier que jusqu'ici nous avons négligé le rôle évident des constituants inorganiques par rapport à la stabilité. Plusieurs auteurs (Schmidt et Payens, 1976 ; Waugh, 1971 ; Schmidt et Both, 1982) ont étudié la formation des complexes micellaires par les mélanges de caséines α_{s1} , K et β en présence de CaCl_2 . Pourtant, comme l'ont démontré notamment les recherches de Schmidt *et al.* (1979), ces « micelles » ne possèdent pas toutes les caractéristiques des micelles natives. En comparaison avec celles-ci, elles ont une résistance diminuée à la pression élevée et pendant la dialyse. Aussi, leur courbe de répartition en taille est-elle différente. C'est seulement par la formation simultanée de phosphate de calcium colloïdal, qu'on obtient des micelles reconstituées comparables aux micelles natives. En effet, pour une connaissance complète de la stabilité des micelles natives, il est indispensable d'étudier non seulement les propriétés physico-chimiques des différentes caséines, mais encore la nature colloïdale du phosphate de calcium et son rôle agrégeant sur les constituants protéiques.

Remerciements

Je remercie vivement MM. H. J. Vreeman et D. G. Schmidt du NIZO qui ont bien voulu me donner leurs conseils.

Bibliographie

- BIGELOW (C. C.) (1967). — On the average hydrophobicity of proteins and the relation between it and protein structure. *J. Theoret. Biol.*, 16, 187-211.
- BRIGNON (G.), RIBADEAU-DUMAS (B.), MERCIER (J. C.), PÉLISSIER (J. P.) and DAS (B. C.) (1976). — Complete amino-acid sequence of bovine α_{s2} casein. *FEBS Lett.*, 76, 274-279.
- GARNIER (J.), MOCQUOT (G.), RIBADEAU-DUMAS (B.) et MAUBOIS (J. L.) (1968). — Coagulation du lait par la présure ; aspects scientifiques et technologiques. *Ann. Nutr. Alim.*, 22, B 495-B 552.
- HERSKOVITS (T. T.) (1966). — On the conformation of caseins. Optical rotatory properties. *Biochem.*, 5, 1018-1026.
- Mc KENZIE (H. A.) (1971). — β -Lactoglobulins, in «Milk proteins, chemistry and molecular biology». Ed. Mc Kenzie H.A., Vol. II, Ch. 14. Academic Press, New York and London.

- PAYENS (T. A. J.) and SCHMIDT (D. G.) (1966). — Boundary spreading of rapidly polymerizing α_{s1} -casein B and C during sedimentation. Numerical solutions of the Lamm-Gilbert-Fujita equation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 115, 136-145.
- PAYENS (T. A.) and VREEMAN (H. J.) (1982). — Casein micelles and micelles of α and β -casein, in «Solution behavior of surfactants: theoretical and applied aspects», K. L. Mittal and E. J. Fendler, eds. Plenum Press, New York.
- PAYENS (T. A.) et BRINKHUIS (J.) (a) (à paraître).
- PAYENS (T. A.) et BRINKHUIS (J.) (b) (en cours de publication).
- RIBADEAU-DUMAS (B.), GROS LAUDE (F.) and MERCIER (J. C.) (1975). — Primary structure of the polymorphs of the caseins. *Mod. Probl. Paediatr.*, 15, 46-62.
- SCHMIDT (D. G.), BOTH (P.), van MARKWIJK (B. W.) and BUCHHEIM (W.) (1974). — The determination of size and molecular weight of casein micelles by means of light scattering and electron microscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 365, 72-79.
- SCHMIDT (D. G.) and PAYENS (T. A. J.) (1976). — Micellar aspects of casein in «Surface and Colloid Science», ed. E. Matijevic, Vol. 9, J. Wiley, New York.
- SCHMIDT (D. G.) (1969). — On the association of α_{s1} -casein. Thèse Université d'Utrecht. Veenman, Wageningen (Pays-Bas).
- SCHMIDT (D. G.) (1979). — Properties of artificial casein micelles. *J. Dairy Res.*, 46, 351-354.
- SCHMIDT (D. G.) and BOTH (P.) (1982). — The location of α_{s1} , β and K-casein in artificial casein micelles. *Milchwissenschaft* (à paraître).
- SNOEREN (T. H. M.), van MARKWIJK (B.) and van MONTFOORT (R.) (1980). — Some physicochemical properties of bovine α_{s2} -casein. *Biochim. Biophys. Acta*, 622, 268-276.
- TANFORD (Ch.) (1980). — The hydrophobic effect: formation of micelles and biological membranes. J. Wiley, New York.
- TONNELAT (J.) (1973). — Biophysique. II. Propriétés hydrodynamiques et optiques des macromolécules biologiques en solution. Masson, Paris.
- VREEMAN (H. J.), BRINKHUIS (J. A.) and VAN DER SPEK (C. A.) (1981). — Some association properties of bovine SH-K-casein. *Biophys. Chem.*, 14, 185-193.
- WAUGH (D. F.) (1954). — Protein-protein interactions. *Adv. Protein Chem.*, 9, 325-437.
- WAUGH (D. F.) and von HIPPEL (P. H.) (1956). — K-casein and the stabilization of casein micelles. *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 4576-4582.
- WAUGH (D. F.) (1971). — Formation and structure of casein micelles, in «Milk proteins, chemistry and molecular biology», ed. Mc Kenzie H. A., Vol. II, Ch. 9. Academic Press, New York and London.
- YON (J.) (1969). — Structure et dynamique conformationnelle des protéines. Hermann, Paris.
-