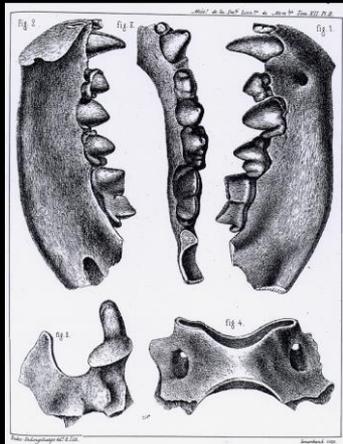


Conférence Manoir du Tourp  
09 septembre 2023

# Les faunes quaternaires normandes : des planches anatomiques du 19e siècle à l'étude du collagène au 21e siècle



Patrick Auguste

Chargé de Recherches CNRS

Laboratoire Évolution-Écologie-  
Paléontologie, CNRS – Université de Lille

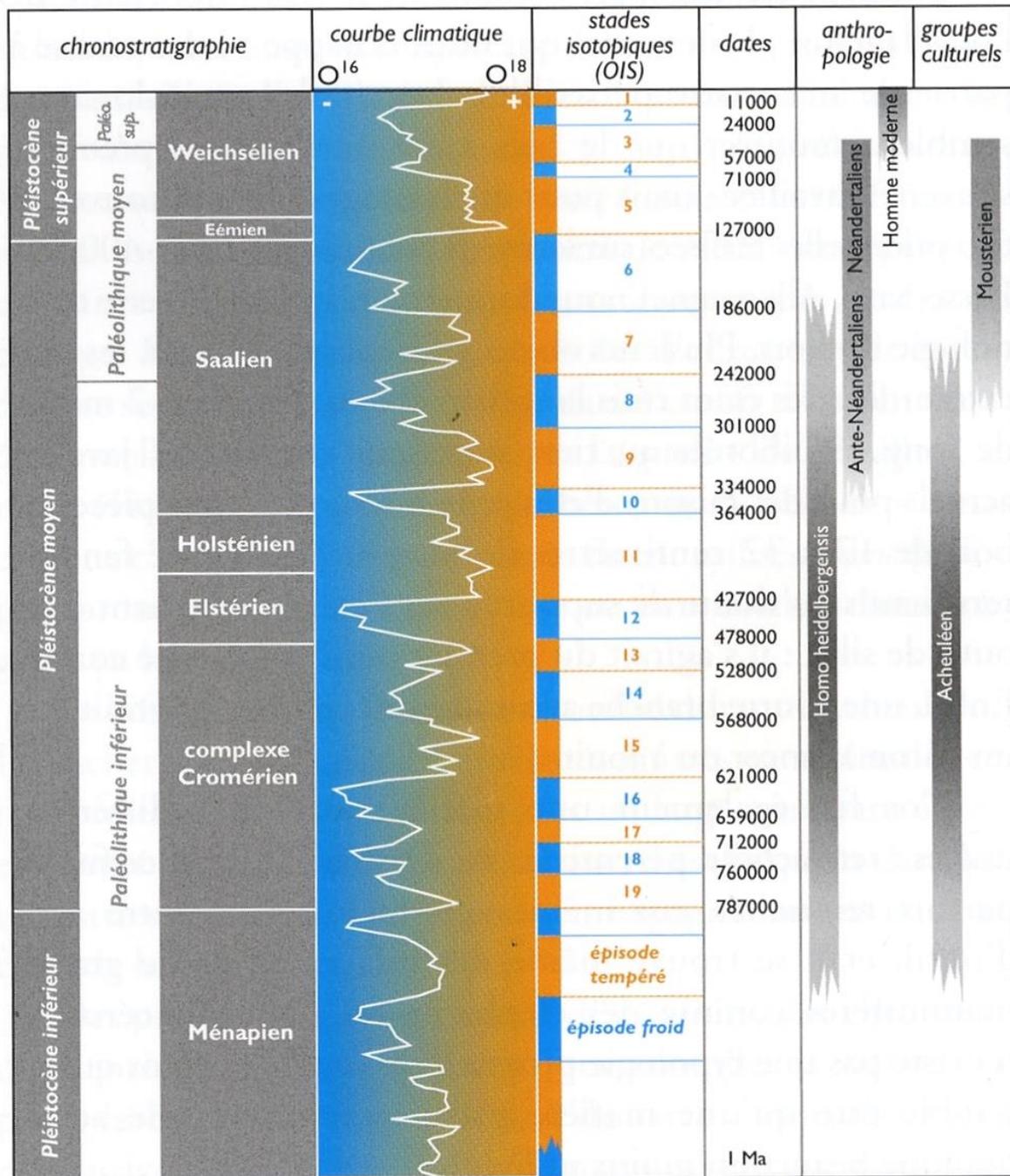
MALDI-FT-ICR/ZooMS



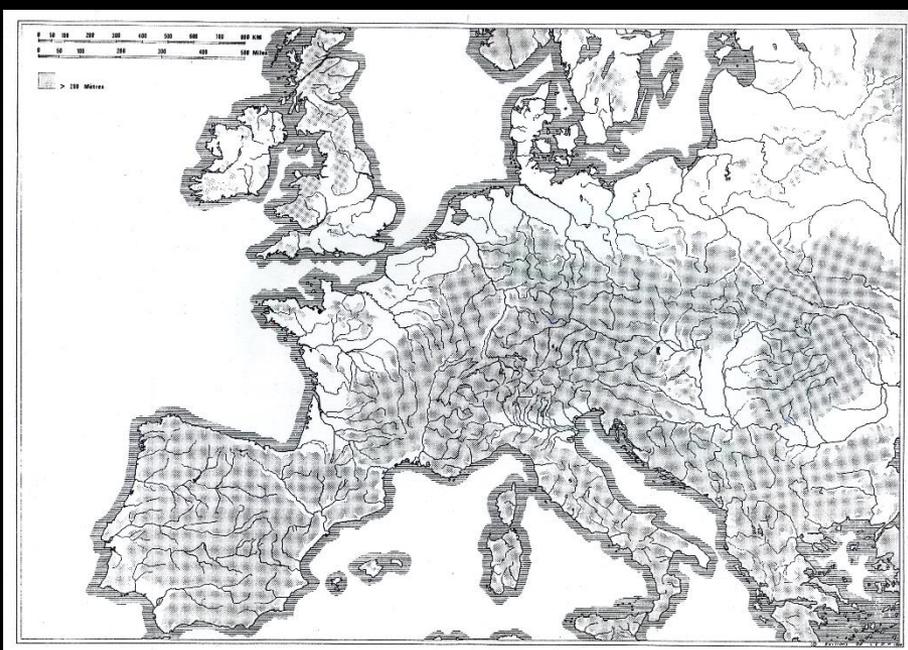
Université  
de Lille



Le cadre général du  
Pléistocène normand et des  
faunes mammaliennes



1 Ma



# La Manche

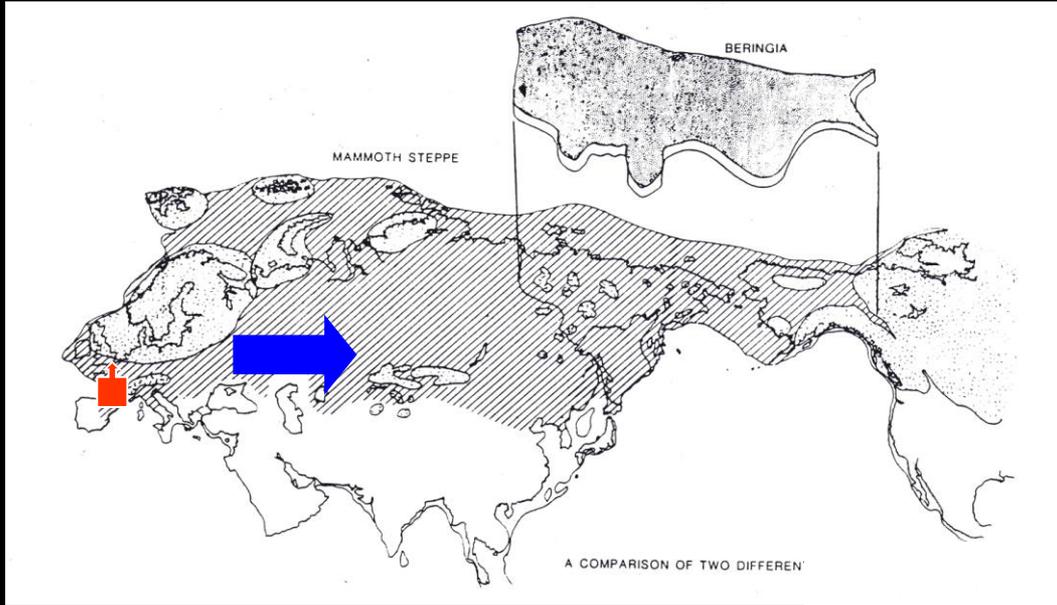
Période interglaciaire



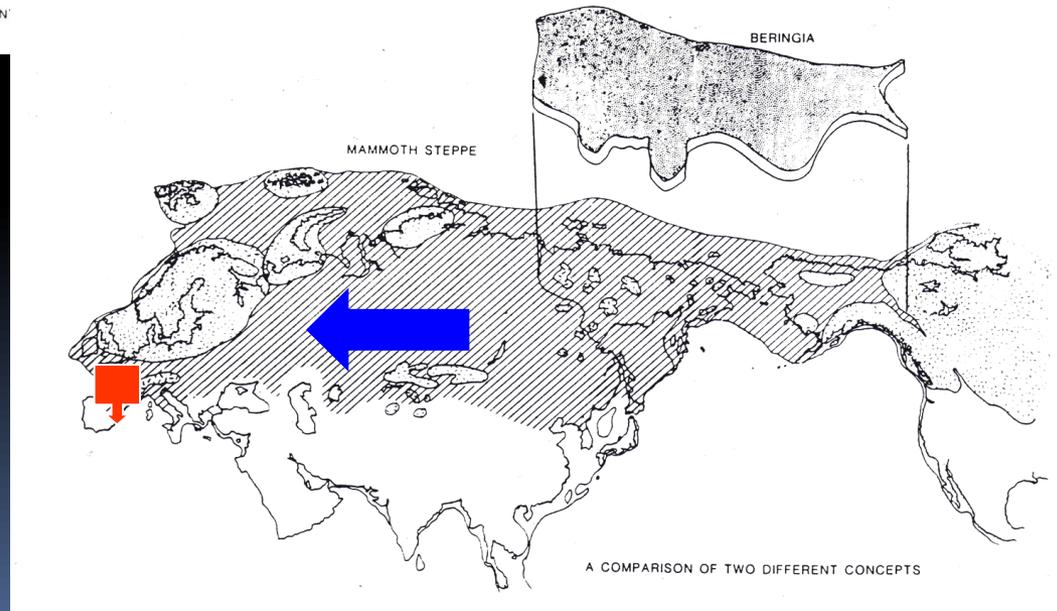
Période glaciaire



# Début interglaciaire



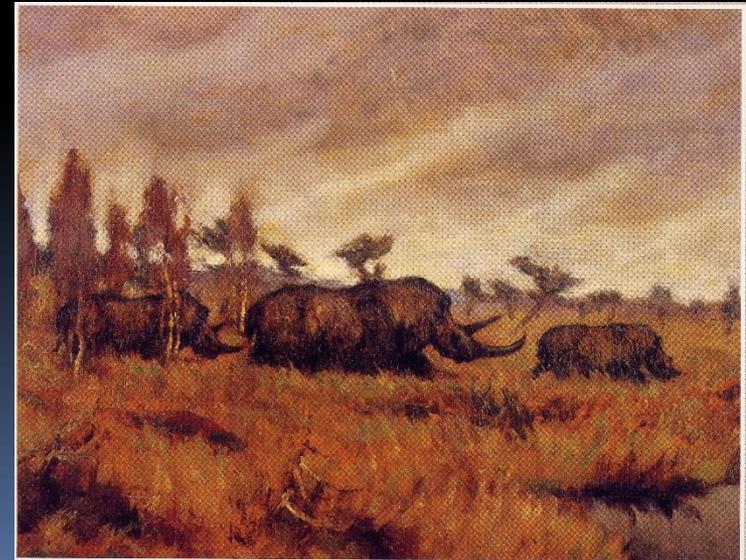
# Début glaciaire



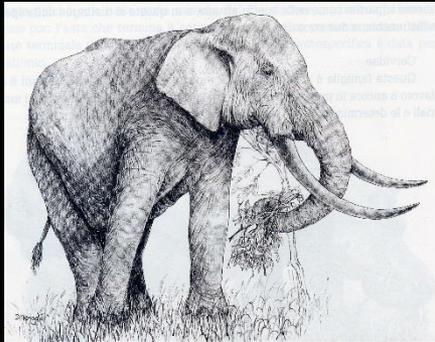
## Paysages interglaciaires typiques



## Paysages glaciaires typiques

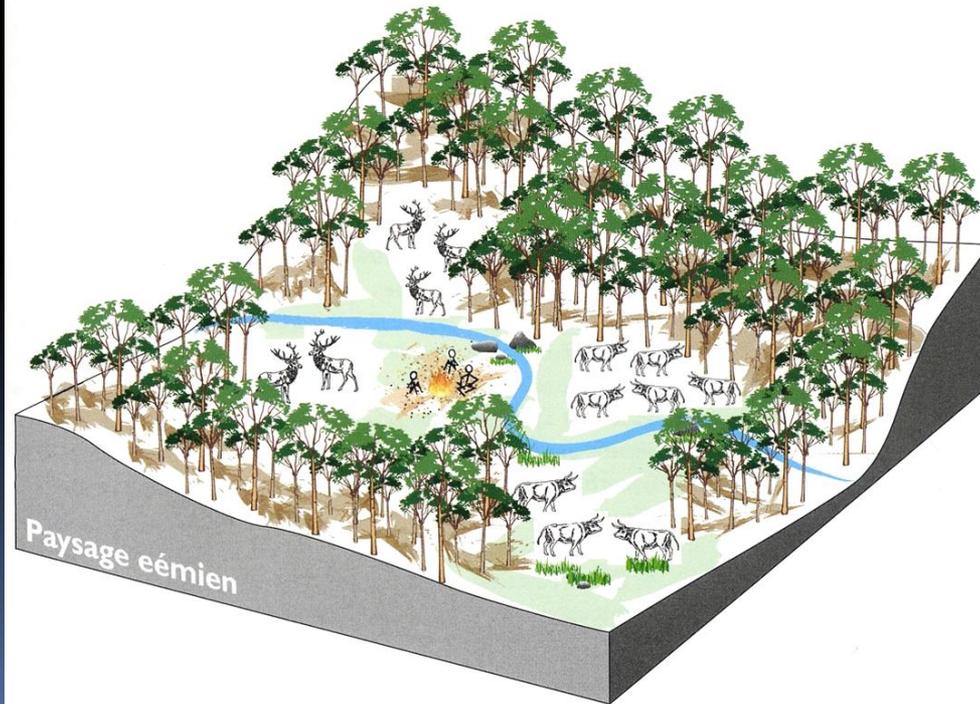
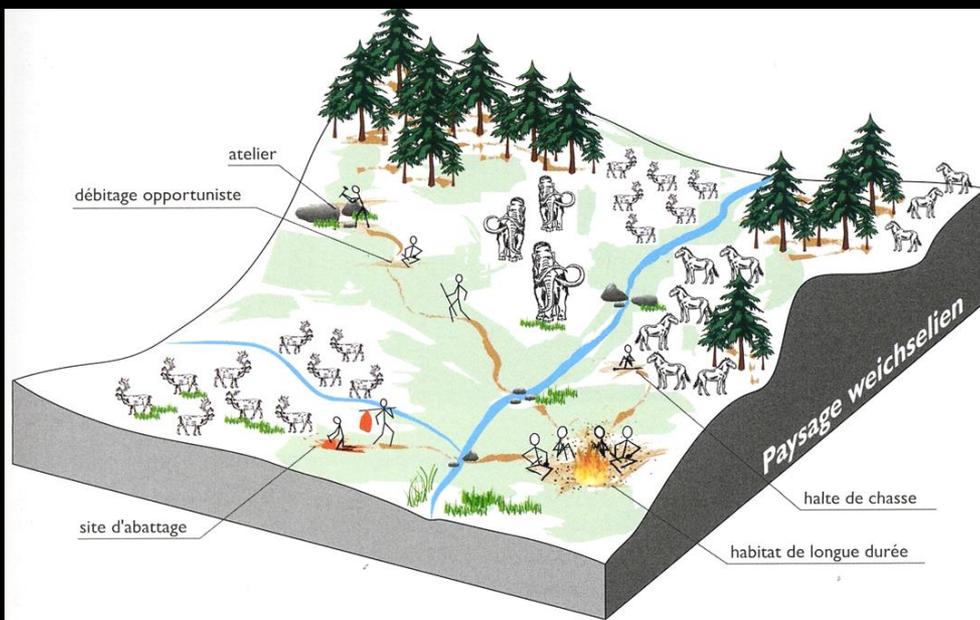


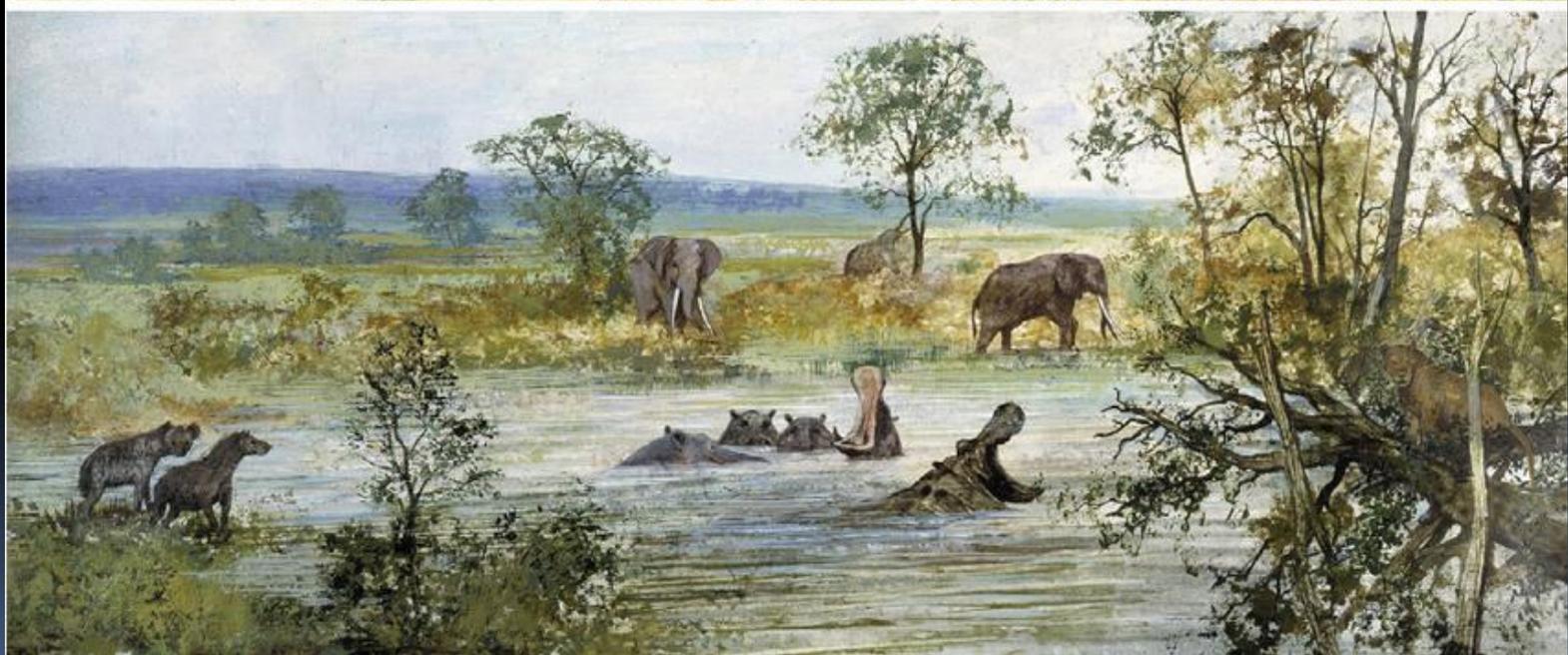
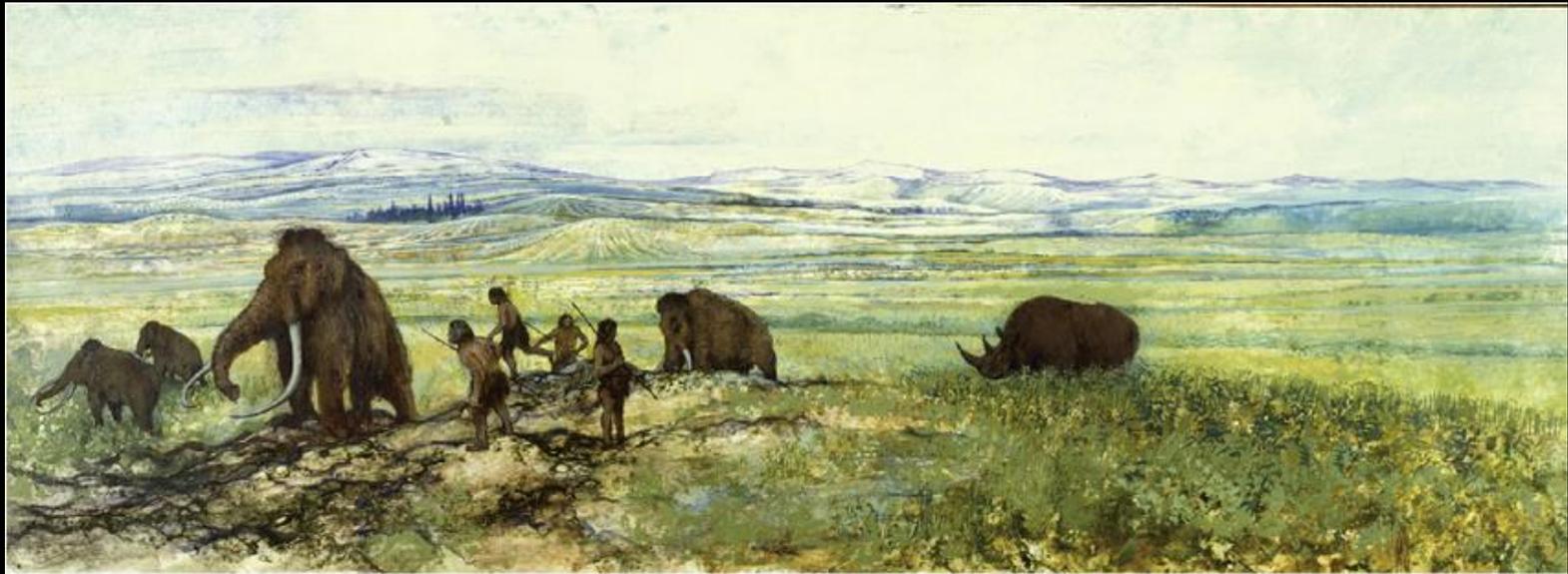
# Faunes tempérées du Pléistocène moyen et supérieur



# Faunes glaciaires







Le bestiaire faunique normand :  
état des connaissances du 19<sup>e</sup>  
au 21<sup>e</sup> siècle

**Les environnements des occupations  
humaines pléistocènes de Normandie (France)  
et des îles anglo-normandes  
dans leur cadre chronologique**

Des milieux et des hommes

sous la direction de

Dominique CLIQUET et Jean-Pierre COUTARD



MIS	Âge	Stratigraphie	Biozones	Contexte culturel	Gisements France septentrionale				
2	60 ka	Weichsélien	26	Paléo. Final	<b>Conty / Dourges</b>				
3				Paléo. supérieur					
4				Paléolithique					
5a						<b>Hénin-sur-Cojeul</b> <b>Beauvais / Ault</b>			
à						<b>Bettencourt-Saint-Ouen</b>			
5d						<b>Mont-Dol</b> <b>Le Rozel</b>			
5e				110 ka		Eemien	25	moyen	<b>Caours</b>
6				130 ka		Saalien	24	Paléolithique	<b>Gentelles / Arques / La Cotte de St-Brelade</b>
7				190 ka					<b>Piégu / Tourville / Monnières / Moru / Sempigny</b>
8				240 ka					<b>Biache-Saint-Vaast / Ranville</b>
9	300 ka	23	<b>Cagny-l'Épinette / Cléon</b>						
10	400 ka	Holsteinien	22	<b>Cagny-la-Garenne II / La Celle / St-Pierre lès-Elbeuf</b>					
11		Elstérien							
12	500 ka	Cromérien	21	Paléolithique	<b>Abbeville (Carpentier/Léon)</b>				
13					<b>Wissant</b>				
à					<b>Grâce</b>				
22	900 ka	Bavélien	20	inférieur	<b>Saint-Prest</b>				
23									
à	1,1 Ma								
31									

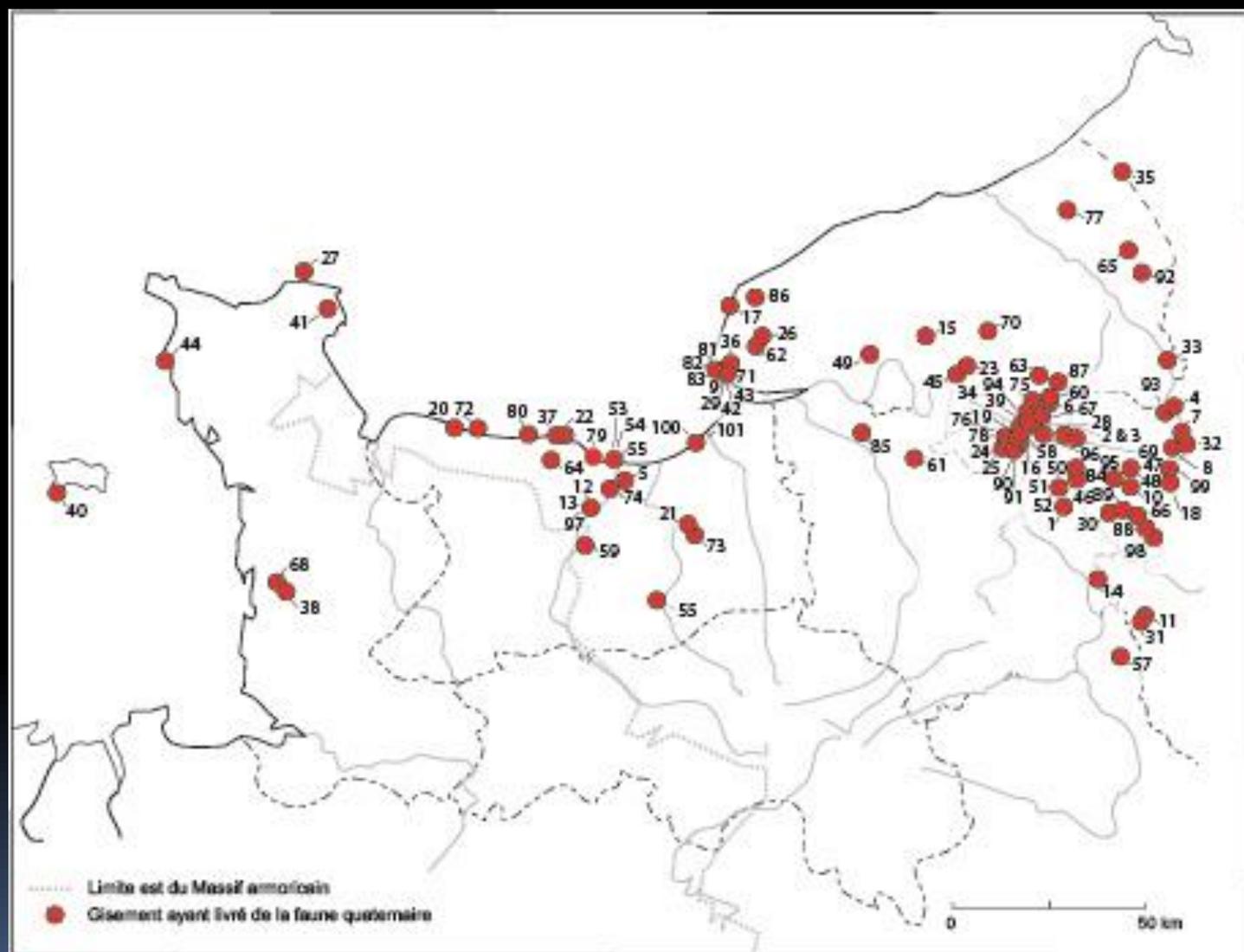


Fig. 2

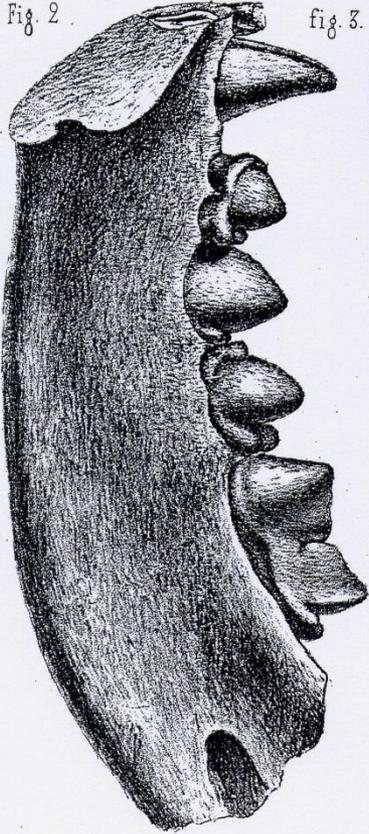


fig. 3.

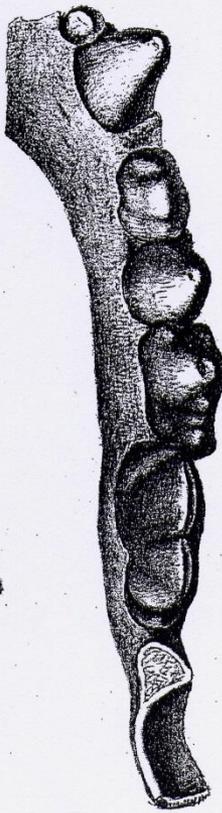


fig. 1.

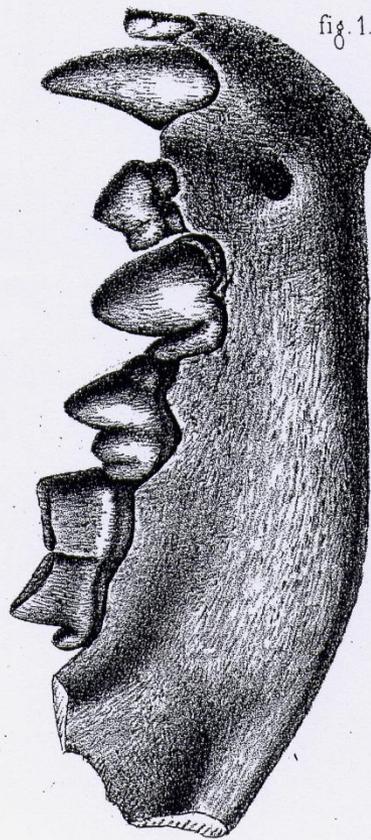


fig. 5.

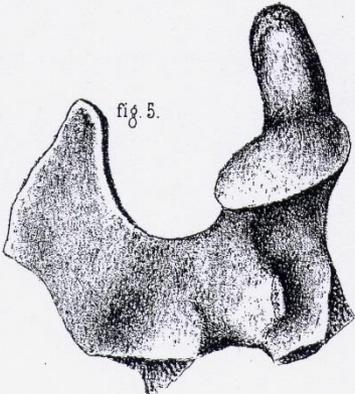
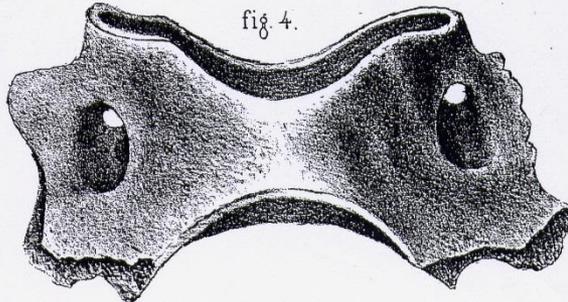


fig. 4.



Hyène des  
cavernes de  
Moulineaux,  
Fontaine-Henry

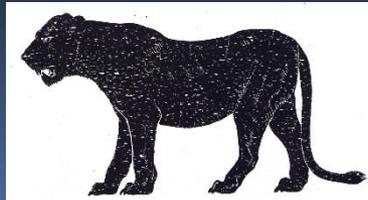
Eudes-Deslongchamps,  
1862

Bœuf musqué de Graille-Sainte-Honorine

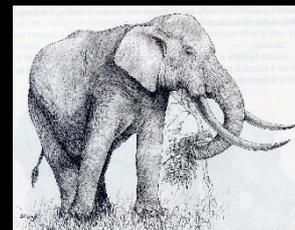




Lion des cavernes  
de Saint-Aubin-lès-  
Elbeuf

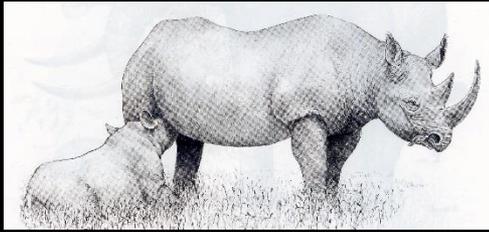


Éléphant de forêt de Sotteville,  
Quatre-Mares



Hippopotame de  
Saint-Aubin-lès-Elbeuf

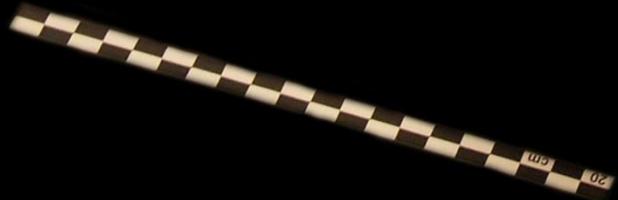
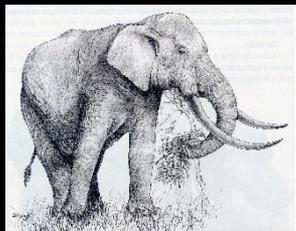


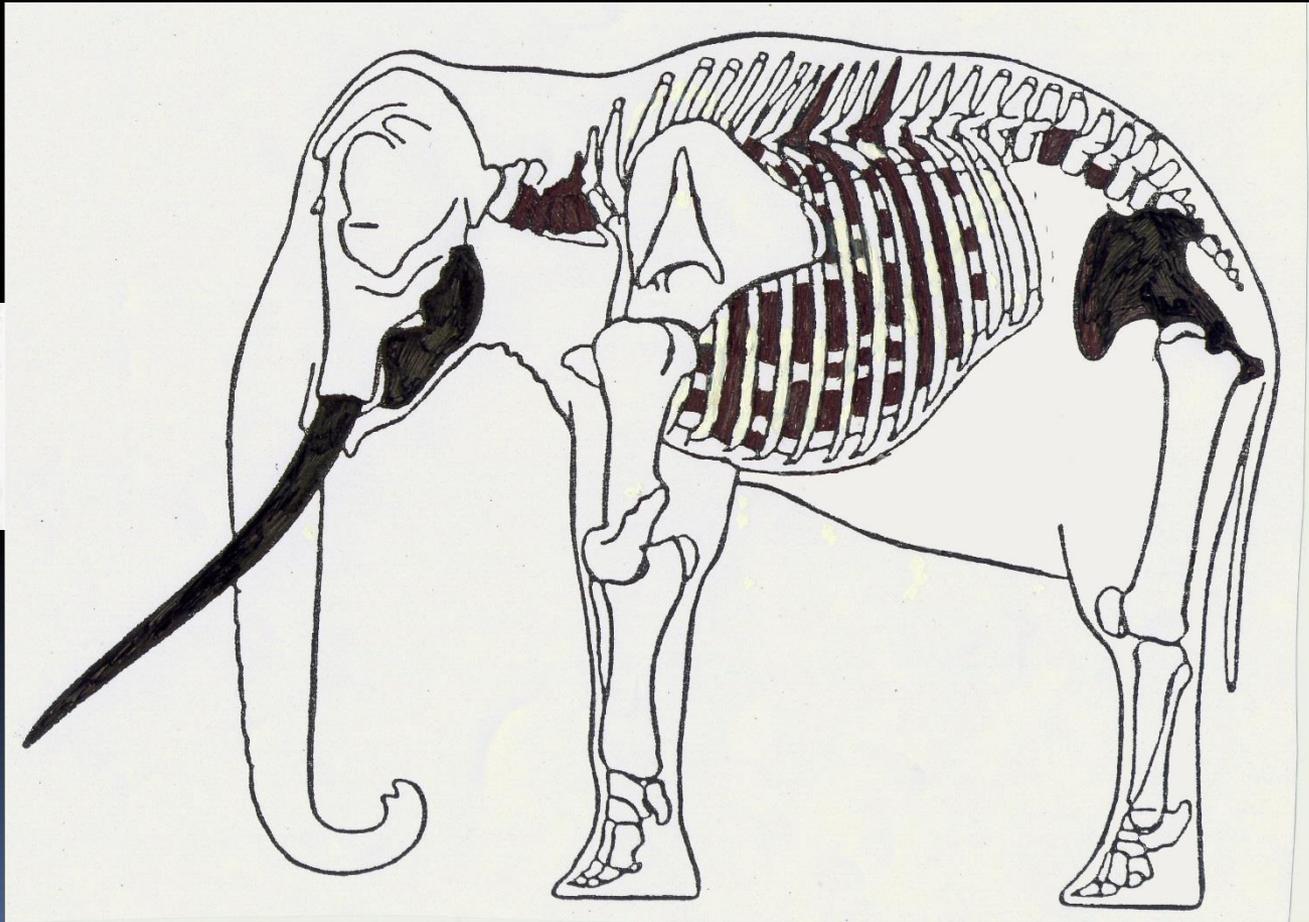
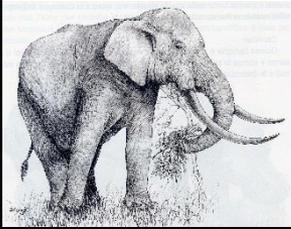


Rhinocéros de prairie de  
Saint-Pierre-lès-Elbeuf



Eléphant de forêt de  
Ranville





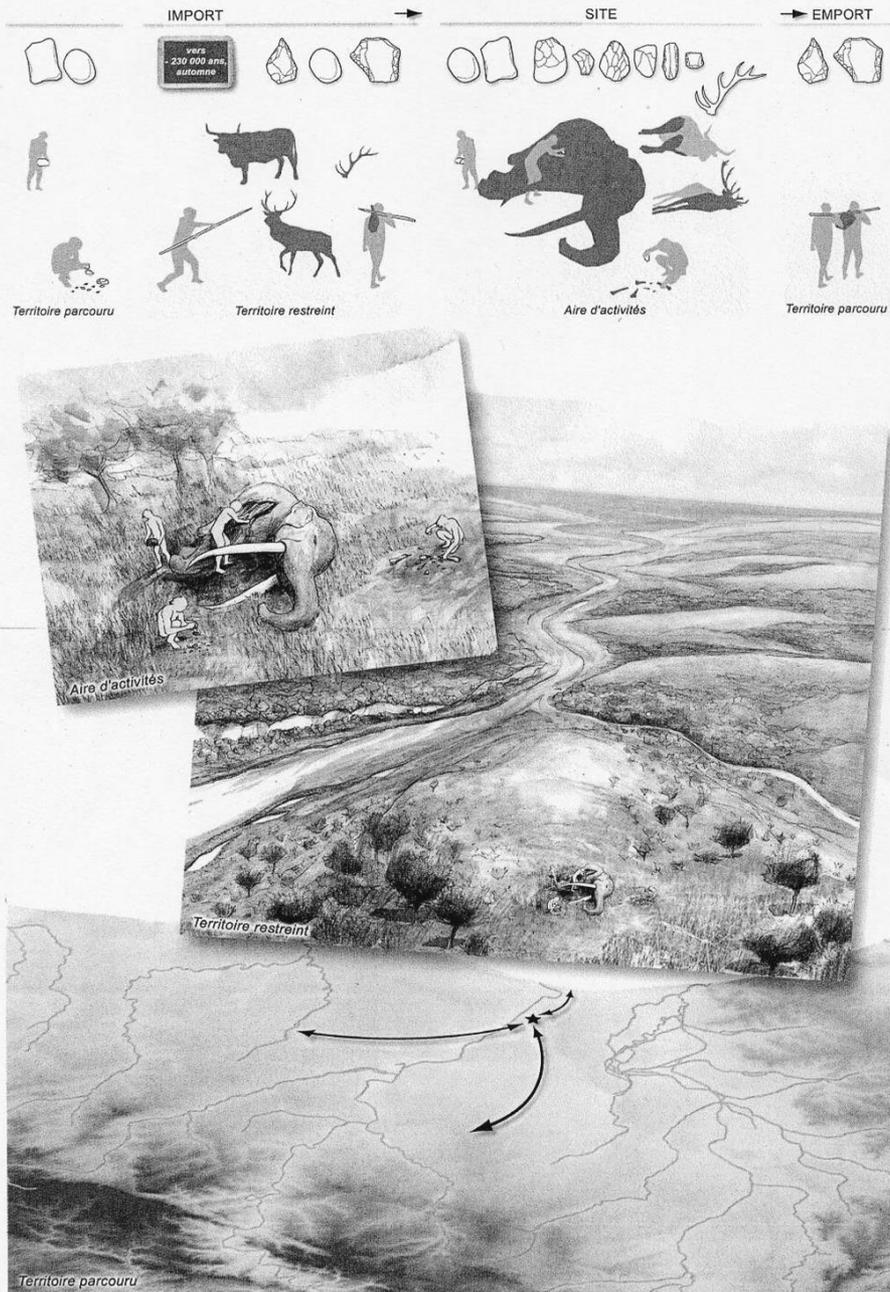
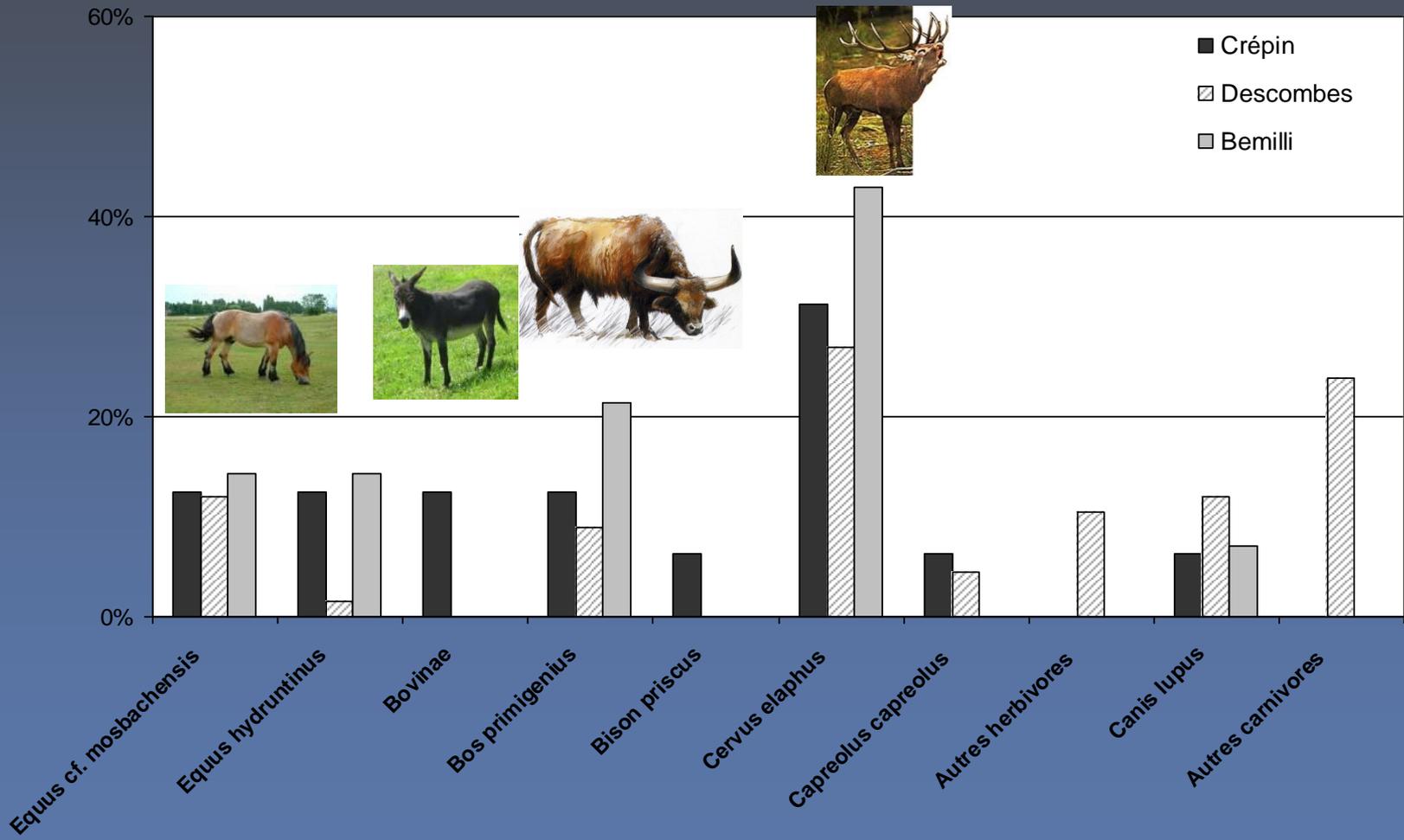


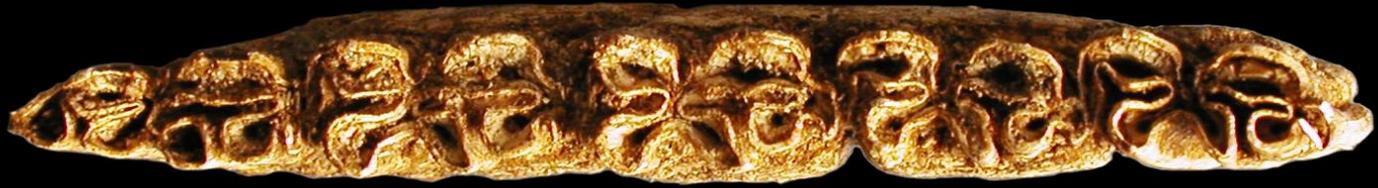
Figure 154 - Evocation du fonctionnement du site (D.A.O Bertrand Fauq, illustrations Laurent Juhel).  
 Figure 154 - Artist's impression of the site (CAD Bertrand Fauq, illustrations Laurent Juhel).

# Tourville-la-Rivière



LE ROZEL  
Premières fouilles







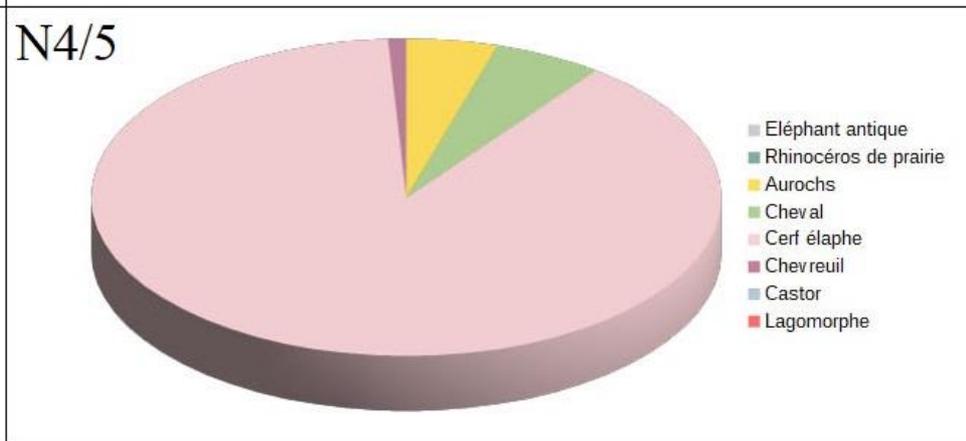
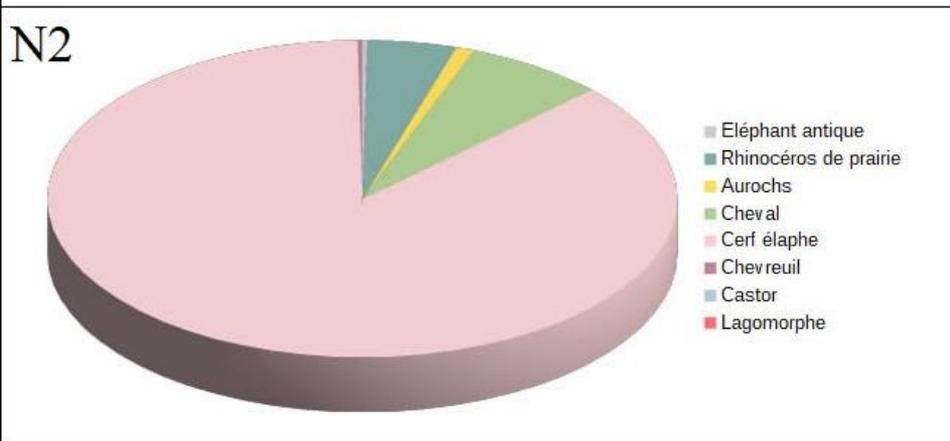
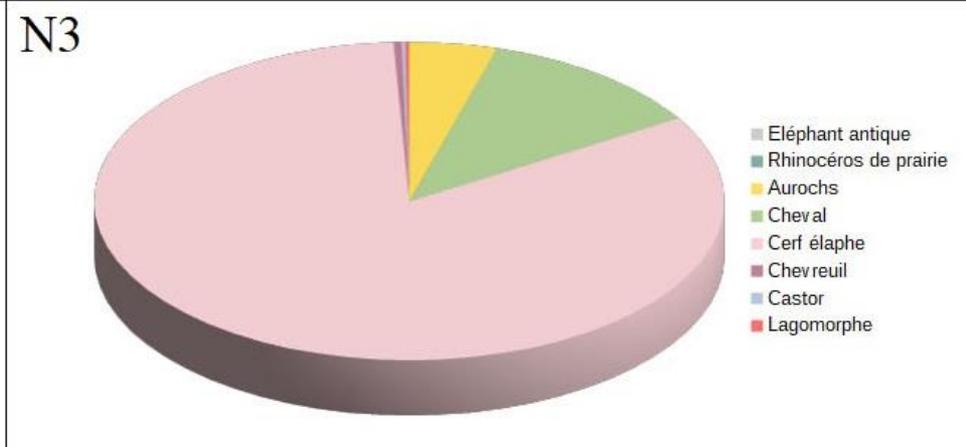
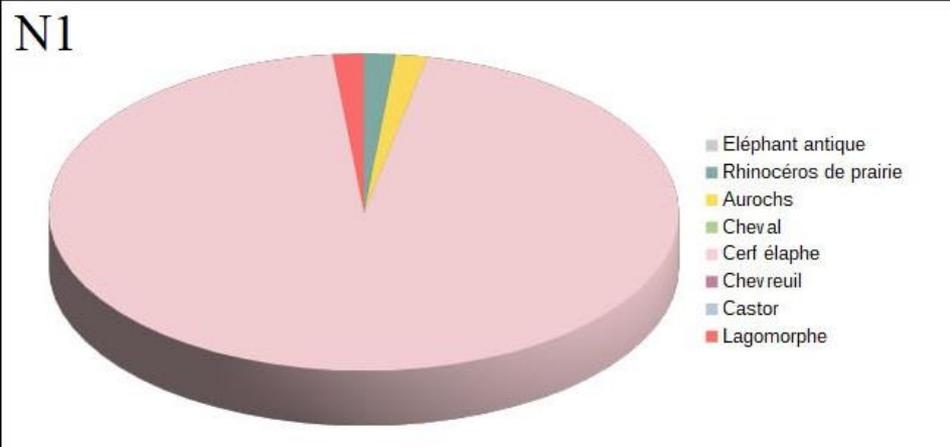
# LE ROZEL

## Fouilles Dominique Cliquet

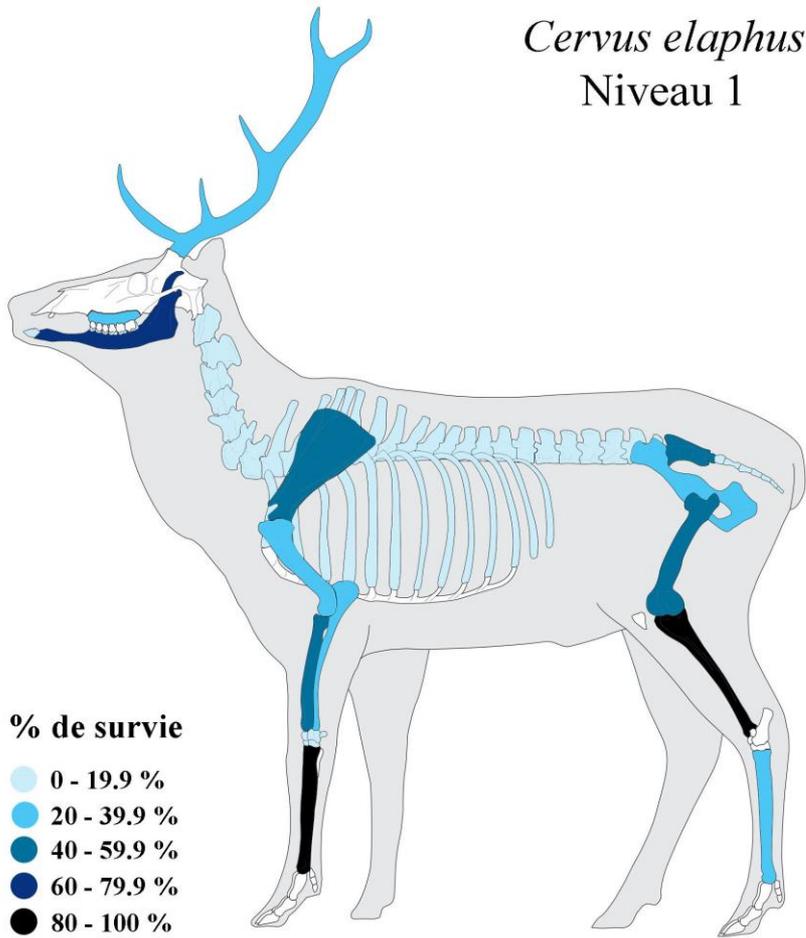
LE ROZEL	1		2		3		4/5		Total niveaux		HS	TOTAL	
	NR	NMI	NR	NMI	NR	NMI	NR	NMI	NR	NMI		NR	NMI
<i>cf. Palaeoloxodon antiquus</i>	-	-	1	1	-	-	-	-	1	1	-	1	1
<i>cf. Stephanorhinus hemitoechus</i>	4	1	15	1	-	-	-	-	19	2	1	20	2
<i>Equus</i> sp.	-	-	31	2	37	5	3	1	71	8	-	71	8
<i>Bos primigenius</i>	2	1	7	1	19	1	5	1	33	4	-	33	4
Grand herbivore	6	-	3	-	19	-	7	-	35	-	-	35	-
<i>Cervus elaphus</i>	114	2	349	3	179	5	43	4	685	14	6	691	14
<i>Capreolus capreolus</i>	-	-	-	-	2	1	-	-	2	1	-	2	1
Moyen herbivore	1	-	36	-	18	-	-	-	55	-	-	55	-
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	1	1	-	-	1	1	-	-	2	2	1	3	2
Petit herbivore	6	-	1	-	3	-	1	-	11	-	-	11	-
Indéterminé	413	-	2121	-	992	-	207	-	3733	-	35	3768	-
<b>TOTAL</b>	<b>547</b>	<b>5</b>	<b>2564</b>	<b>8</b>	<b>1270</b>	<b>13</b>	<b>266</b>	<b>6</b>	<b>4647</b>	<b>32</b>	<b>43</b>	<b>4690</b>	<b>32</b>

Tableau 104 : Le Rozel. Inventaire en NR et en NMI de la grande faune. HS = hors stratigraphie.

# Spectre faunique en % de NR

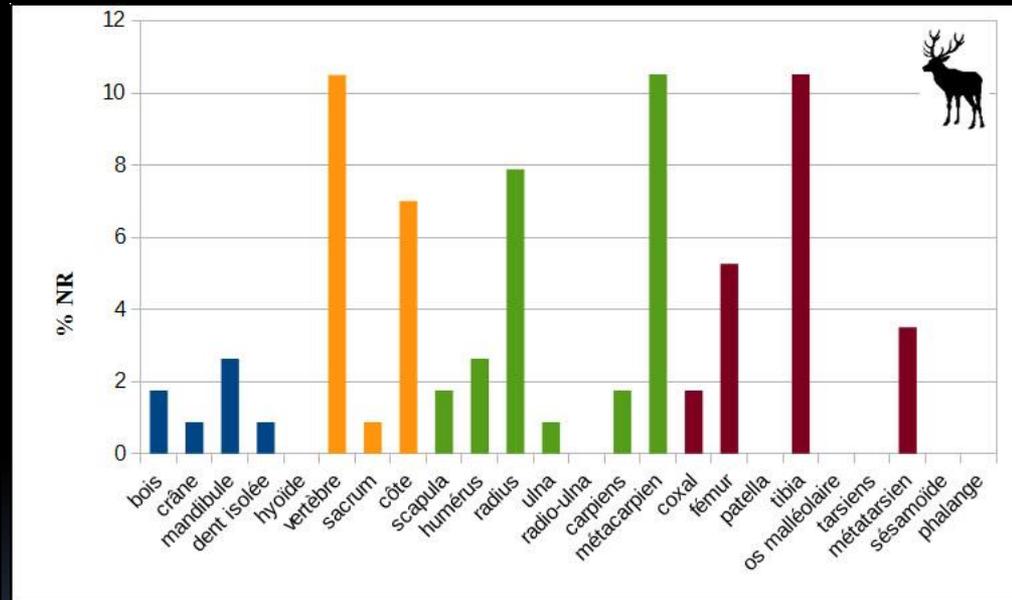


*Cervus elaphus*  
Niveau 1



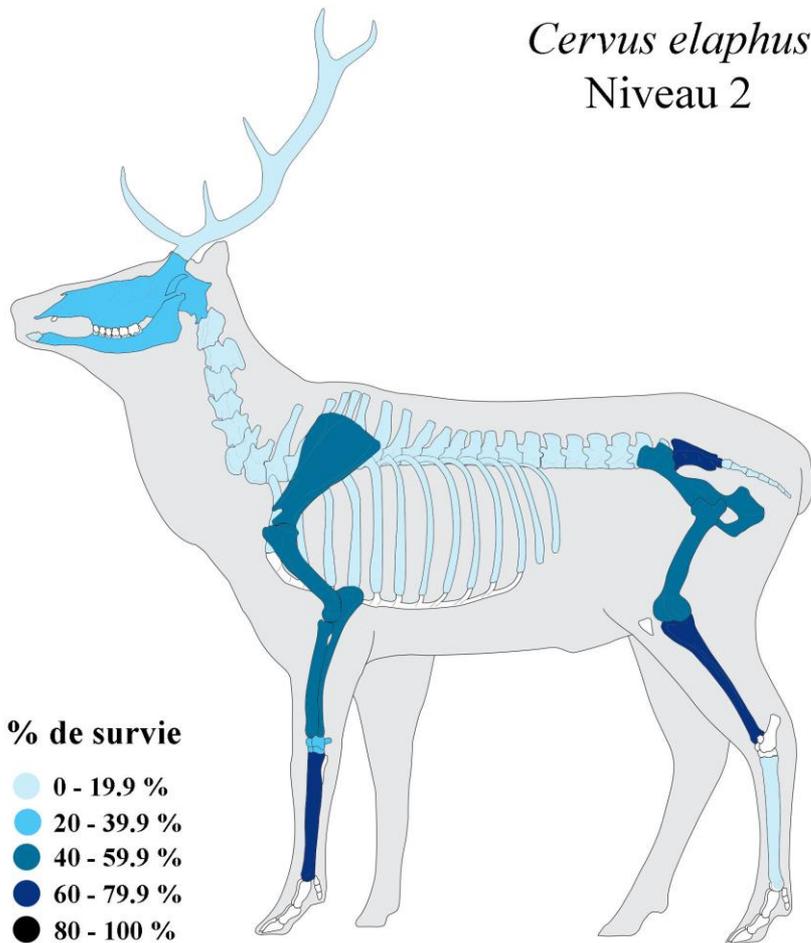
© 2004 ArcheoZoo.org / J.-G. Ferrié  
D'après : Cédric Beauval, Michel Coutureau - Dessin du squelette de renne, ArcheoZoo.org, 2003.

Représentation squelettique, pourcentage de survie des carcasses, et transport différentiel...

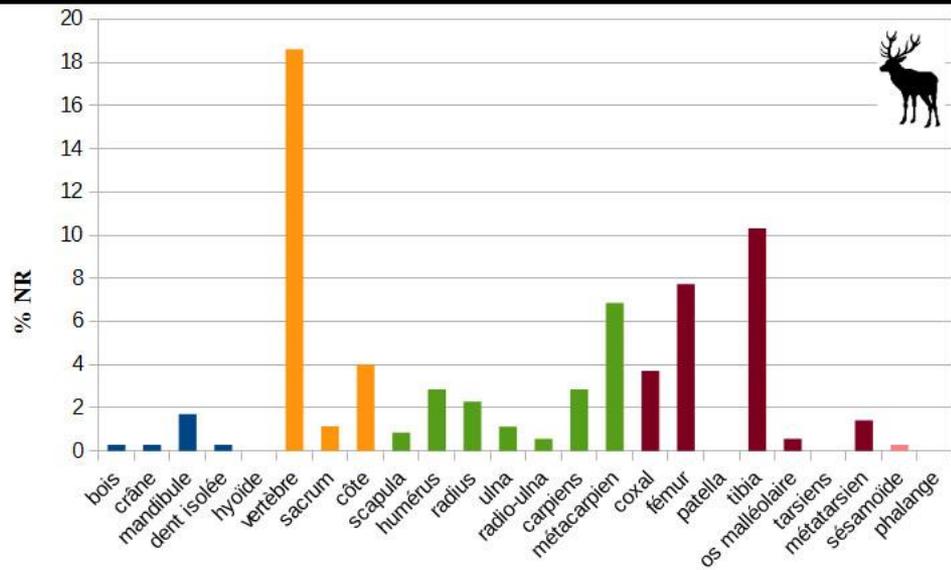


Sévêque

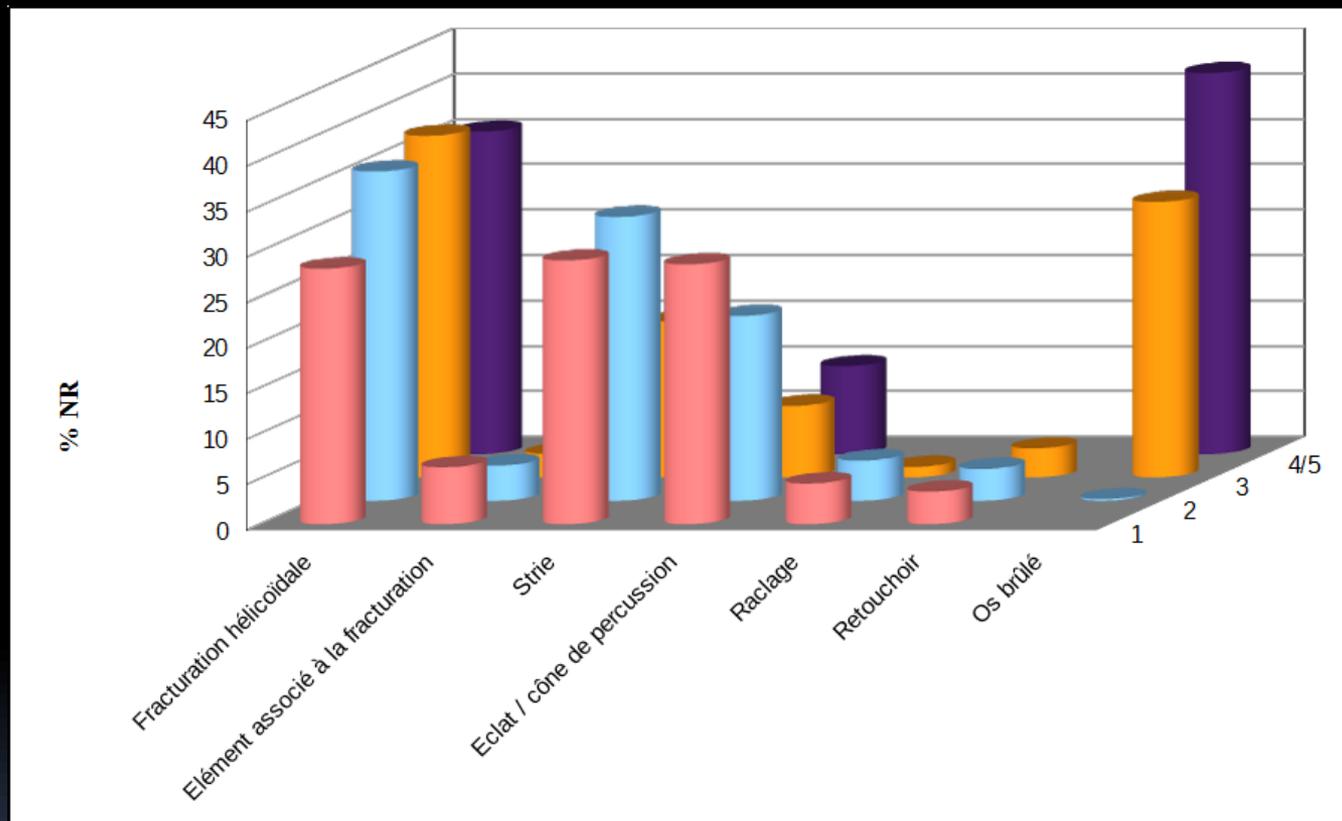
*Cervus elaphus*  
Niveau 2



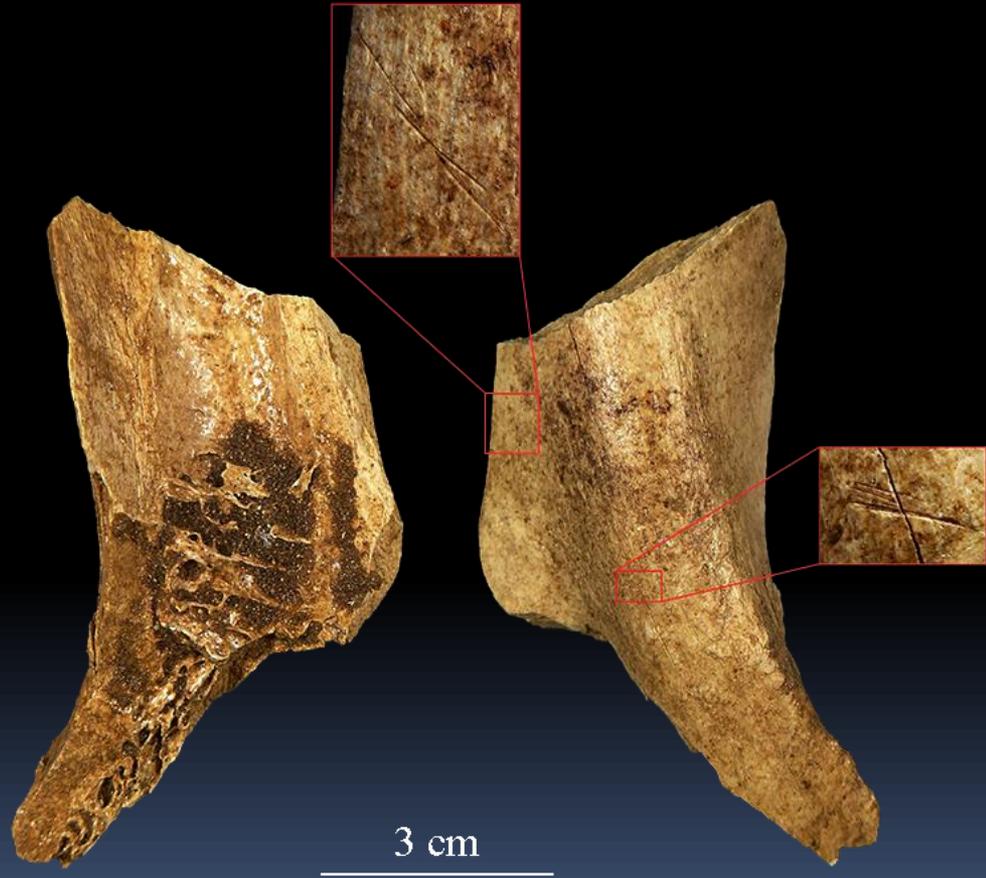
© 2004 ArcheoZoo.org / J.-G. Ferrié  
D'après : Cédric Beauval, Michel Coutureau - Dessin du squelette de renne, ArcheoZoo.org, 2003.



## Stigmates anthropiques et activités...



## Exploitation de la viande et de la moelle

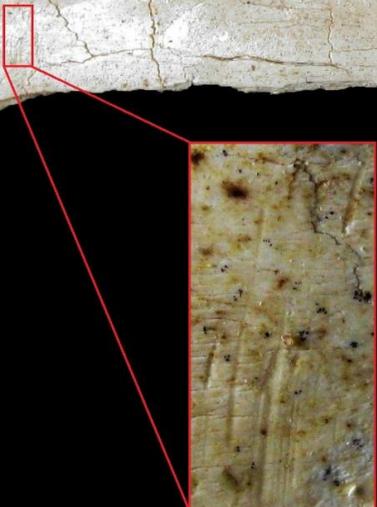




# Exploitation de la langue

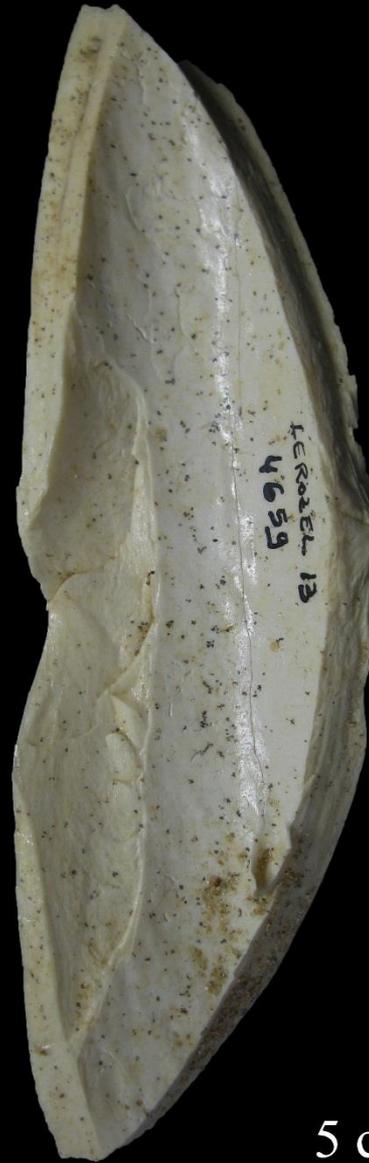


LE 4012 13  
6 923

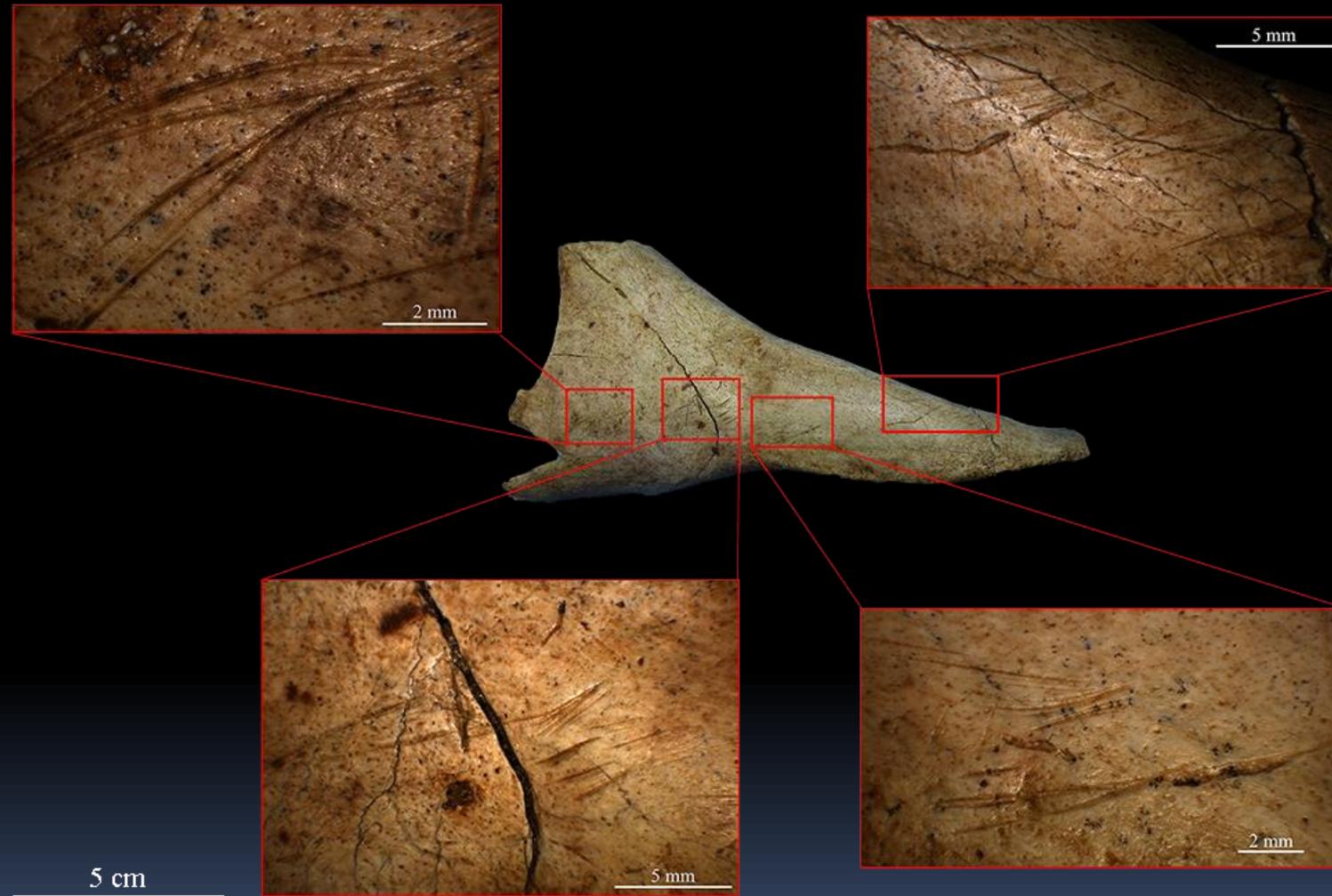


5 cm

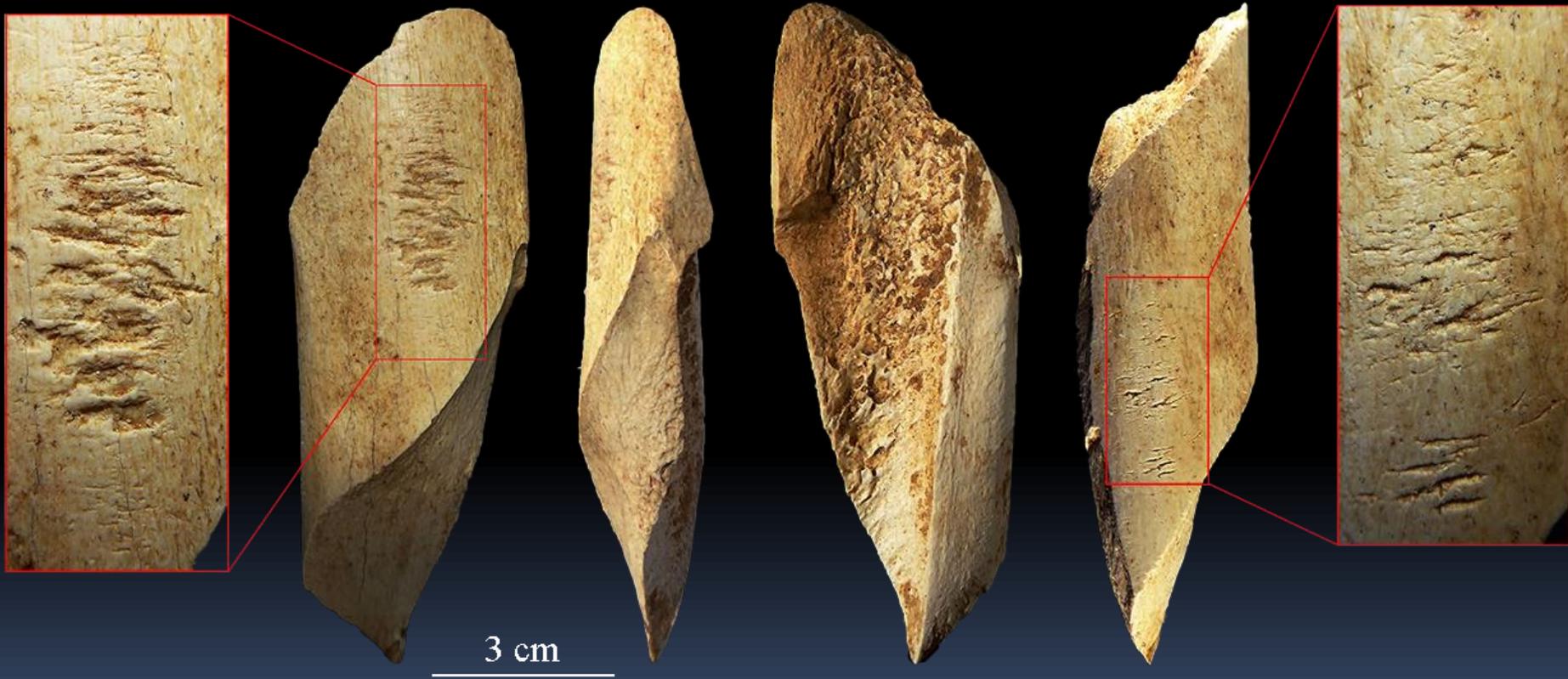




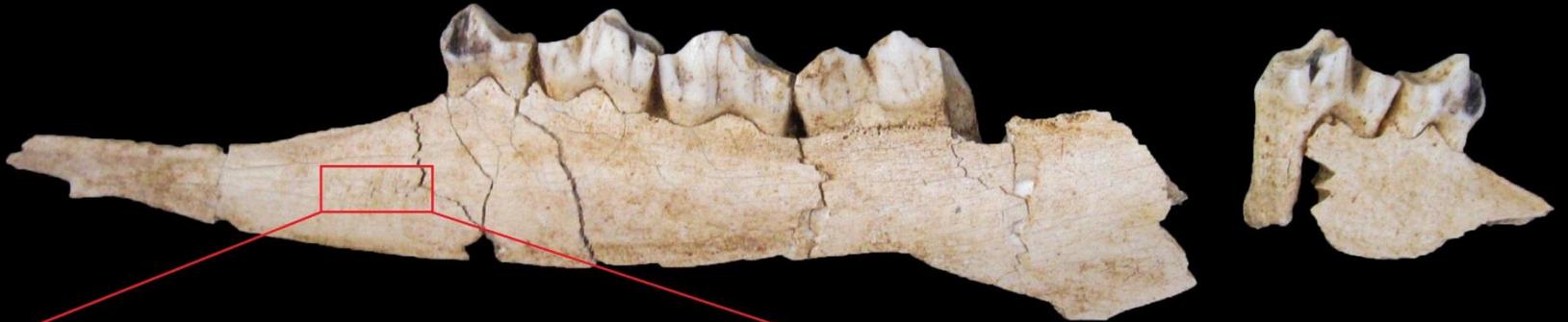
# Exploitation de la peau



## Utilisation des os comme matière première : les retouchoirs



Sévêque



3 cm



Une nouvelle méthode  
d'identification des espèces :  
La paléoprotéomique

# Problématique :

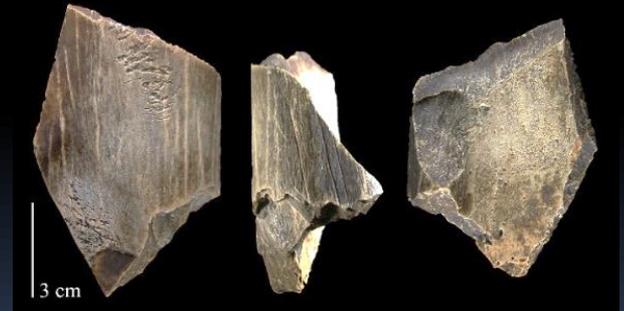
- Identification d'espèces disparues
- Reconstruction phylogénétique
- Identification d'os non anatomiquement et spécifiquement identifiables
- Présence dans les sites paléolithiques de très nombreux petits fragments d'os



*Homotherium latidens*  
Félin à dents-de-sabre

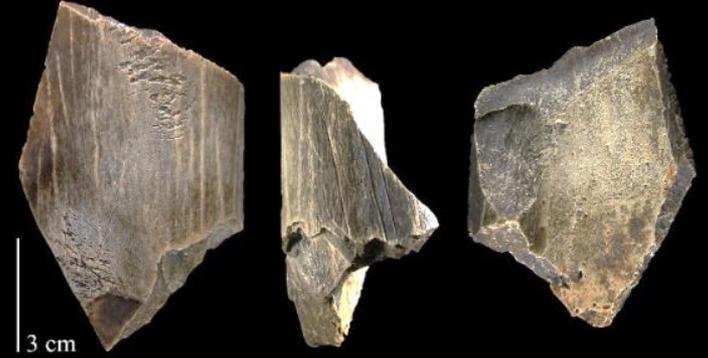


*Ursus spelaeus*  
Ours des cavernes



Retouchoirs en os



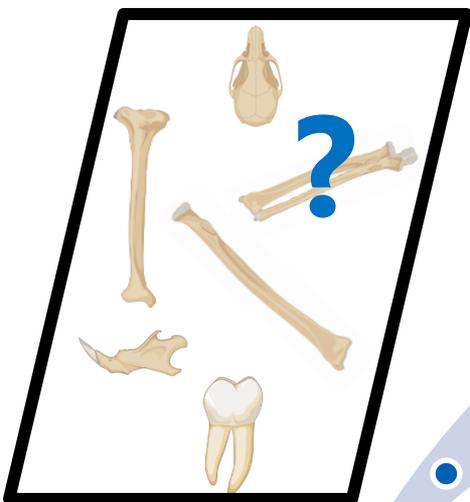


- État de l'art et limites des outils disponibles :
  - Anatomie comparée utilisable si les os sont assez complets, mais problème pour les espèces disparues
  - ADN ancien : très limité dans le temps et très ossofage
  - Analyses isotopiques, racémisation des acides-aminés : non adaptés pour la problématique
  - Analyses protéomique "ZooMS" (ZooArchaeology by Mass Spectrometry) en développement, mais techniques d'extraction encore trop destructives et quantité d'os prélevé parfois trop importante, très faible résolution (+ phylogénie difficilement possible)

# Analyse haut débit et haute résolution

Ossements

96 échantillons traités en une seule fois



1 à 5 mg d'os

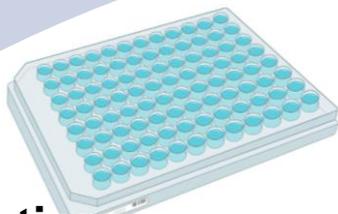
Déminéralisation

Lavage

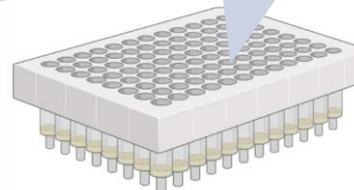
Gélatinisation

Digestion trypsique

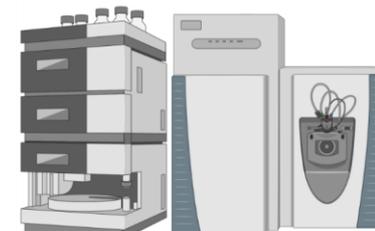
C18 Purification



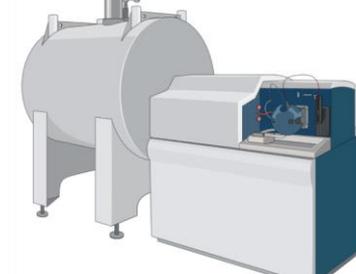
PVDF 96 well plate



C18 96 well plate

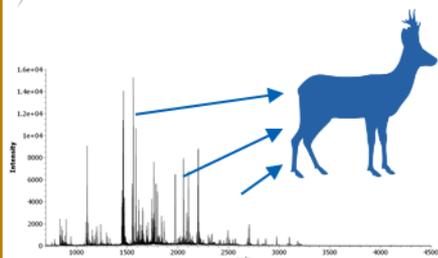


NanoHPLC nanoESI Q-exactive plus

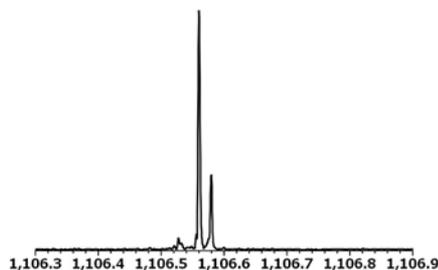


MALDI FTICR Solarix 9,4 T analysis

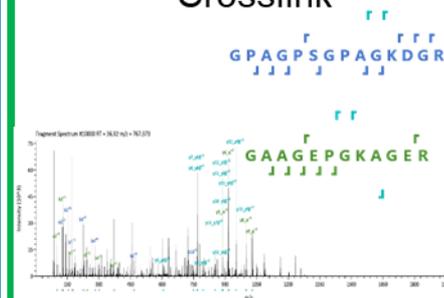
Identification des espèces



Taux de déamidation

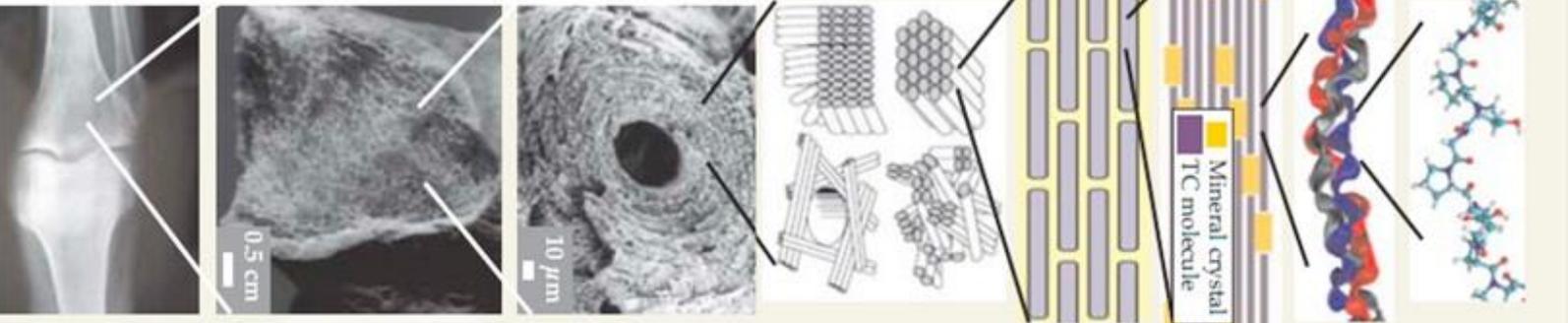


Quantification des "Crosslink"

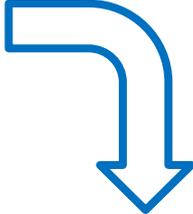


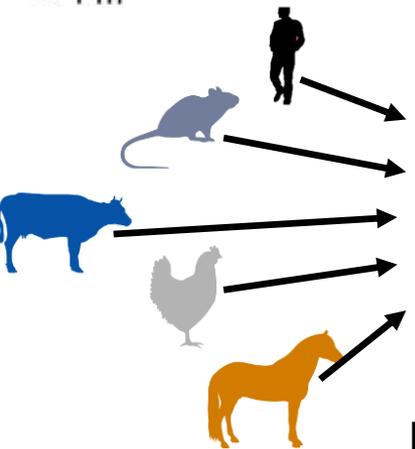
# Identification des taxons (famille, genre, espèce) à l'aide de marqueurs peptidiques

## Hierarchical structure of bone



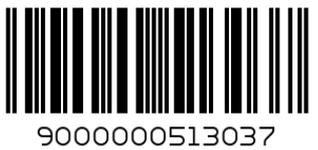
Macroscopic bone ~ 1 m  
 Bone tissue ~ 50 cm  
 Osteon and Haversian canal ~ 100 μm  
 Fiber patterns ~ 100 μm  
 Mineralized fibrils and arrays ~ 10 μm  
 Tropo-collagen ~ 300 nm  
 Amino acids ~ 1 nm

Trypsin digestion  
  
**COL1A1**  
**COL1A2**



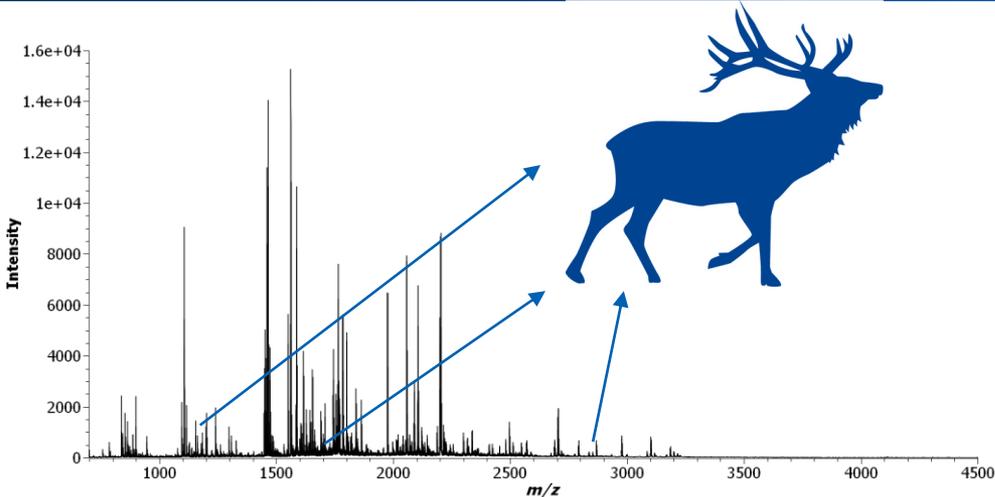
RGLVGEPGPAGSKGESGNKGEPGSAGPQGPPGPSGEEGK	381
RGLVGEPGPAGSKGETGNKGEPGSAGAQQPPGPSGEEGK	387
RGLVGEPGPAGSKGESGNKGEPGAVGQPPPPGPSGEEGK	379
RGLVGEPGPAGAKGESGNKGEPGAA GPPGPPGPSGEEGK	380
RGI VGEPPGPAGSKGESGNKGEPGAAGPQGPPGPSGEEGK	280

## Collagen 1 alpha 2

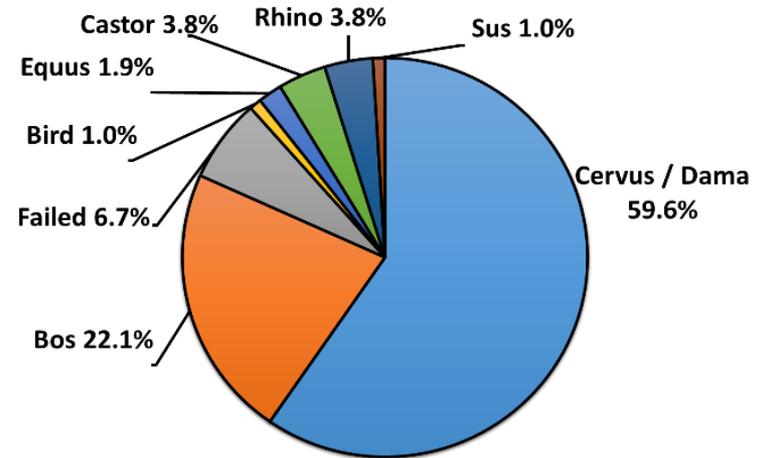


Buckley, M., Collins, M., Thomas-Oates, J., & Wilson, J. C. (2009). Species identification by analysis of bone collagen using matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry*, 23(23), 3843-3854.

# Identification d'os par MALDI FTICR MS de Caours (Somme, France)



MALDI FTICR spectre de *Cervus elaphus* (cerf élaphe)



Répartition par nombre de restes identifiés par la morphologie et l'analyse MALDI FTICR MS

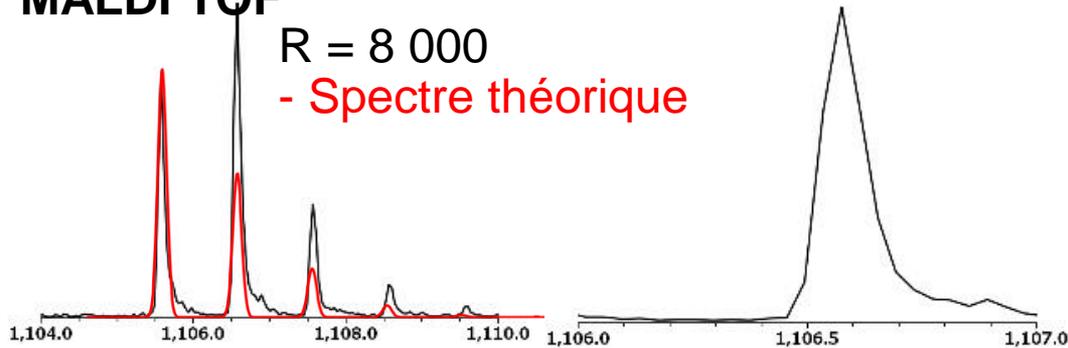
- **104 os âgés de 120 000 ans provenant de Caours** analysés par MALDI FTICR
- Un taux de réussite de **93%** d'os identifiés par l'analyse MALDI FTICR MS
- **55%** des os n'ont pu être **identifiés par la morphologie**
- **91%** de ces os ont pu être **identifiés par l'analyse MALDI FTICR MS**

# Comparaison MALDI-TOF (“ZooMs”) vs MALDI FTICR

## MALDI TOF

R = 8 000

- Spectre théorique



- *Bos primigenius*, digestion de l'os (Ca 101)
- Étude de la séquence GVQGP<sup>ox</sup>PGPAGPR : le peptide universel dans le collagène des mammifères
- **Peptide déamidés**
- GVQ<sup>dem</sup>GP<sup>ox</sup>PGPAGPR est present dans la digestion de l'os

- **Une acquisition de 2M** est suffisante pour mesurer précisément la déamidation

- FTICR permet d'observer une **différence de masse de 0,019 Da** (deamidation)

- **Erreur de moins d' 1ppm**

## MALDI FTICR

m/z 1 105,5750  
Error 1 ppm

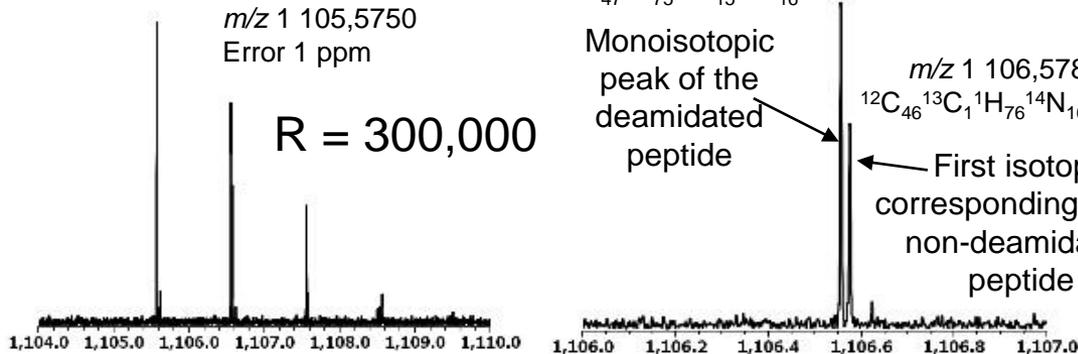
R = 300,000

m/z 1 106,5590  
<sup>12</sup>C<sub>47</sub><sup>1</sup>H<sub>75</sub><sup>14</sup>N<sub>15</sub><sup>16</sup>O<sub>16</sub>

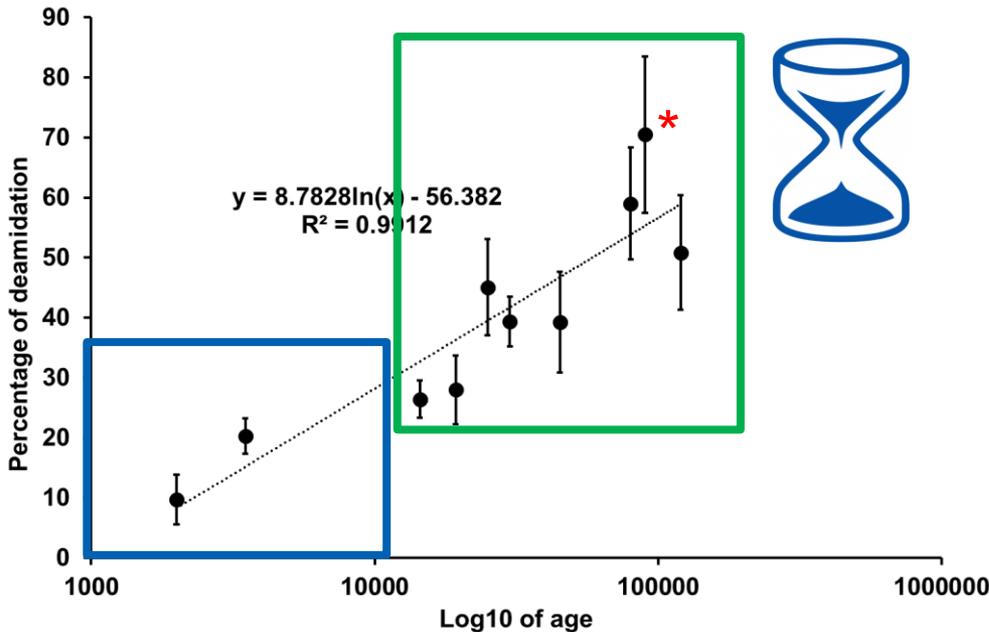
Monoisotopic peak of the deamidated peptide

m/z 1 106,5787  
<sup>12</sup>C<sub>46</sub><sup>13</sup>C<sub>1</sub><sup>1</sup>H<sub>76</sub><sup>14</sup>N<sub>16</sub><sup>16</sup>O<sub>15</sub>

First isotope corresponding to the non-deamidated peptide

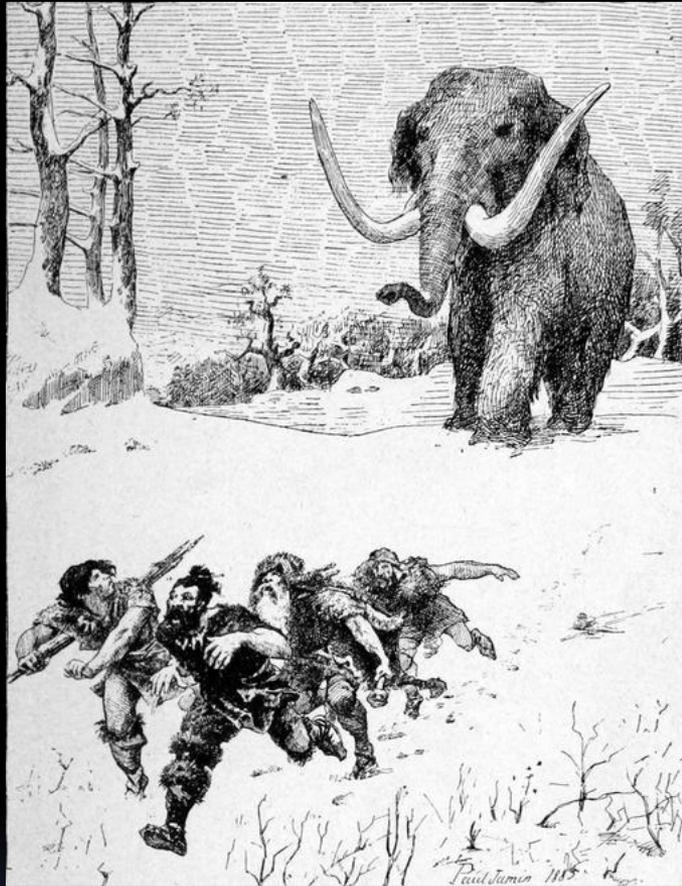


# Estimation de l'âge géologique par MALDI FTICR MS



- **310 os de l'Holocène** au **Pléistocène** (120 000)
- Le taux de déamidation du peptide à la masse  $m/z$  1,105.5590 montre une **différence significative entre les sites**
- Le taux de déamidation des échantillons modernes est de 1.2% +/- 1%
- \* Correspond aux os de Mutzig (France) où le sol est acide (sur-vieillessement lié aux contextes sédimentaires)

- La conservation du matériel osseux dépendant du contexte environnemental diffère suivant les sites et peut **induire une variabilité** dans l'estimation de l'âge
- Il serait intéressant de regarder d'autres marqueurs protéomiques **corrélés avec l'âge**



Merci pour votre attention