HAL
open science

Analyse des protéines du lait des Camélidés par approches protéomique et moléculaire

Christelle Cebo, Besma Saadaoui

To cite this version:

Christelle Cebo, Besma Saadaoui. Analyse des protéines du lait des Camélidés par approches protéomique et moléculaire. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Tunis - ECOLE SUPERIEURE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE TUNIS, 2015. Français. NNT : . tel-02954861

HAL Id: tel-02954861

https://hal.inrae.fr/tel-02954861

Submitted on 1 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

REPUBLIQUE TUNISIENNE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE TUNIS EL MANAR
FACULTE DES SCIENCES DE TUNIS

THÈSE

Présentée par

Besma SAADAOUI

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR en SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité

BIOCHIMIE

Analyse des protéines du lait des Camélidés par approches protéomique et moléculaire

---

Soutenue publiquement le 18 mai 2015

Devant le jury composé de :

Mr. Omrane BELHADJ	Président
Mr. Mohamed MARS	Encadreur
Mme. Sellama BAHRI	Rapporteur
Mme. Jeannette BEN HAMIDA	Rapporteur
Mme. Christelle CEBO	Examinateur
Mr. Touhami KHORCHANI	Examinateur

Tables des matières

Introduction générale 1

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I- Présentation des Camélidés 3
1- Taxonomie des Camélidés 3
2- Répartition géographique des Camélidés 5
2-1- Généralités 5
2-2- Les Camélidés en Tunisie 6
3- Génétique des Camélidés 6
3-1- Diversité génétique chez le dromadaire 6
3-2- Séquençage des génomes 7
II- Le lait des Camélidés 8
1- Place du lait des Camélidés dans la production mondiale 8
2- Utilisation du lait des Camélidés 9
3- Composition globale du lait des Camélidés 10
3-1- Composition du lait de dromadaire 10
3-2-Composition globale du lait de lama 11
4- Le lait de dromadaire, un médicament efficace ? 11
5- Les facteurs de variation de la production et de la composition laitière 12
5-1- Variabilité génétique et production laitière 12
5-2- Effet du stade de lactation sur la production laitière 13
5-3- Effet de l'alimentation sur la production laitière 13
5-4- Effet des conditions climatiques 14
5-5- Effet de la fréquence de traite 14
5-6- Effet du rang de la mise bas 15
5-7- Effet de l'état sanitaire 15
III- Composition fine du lait de dromadaire 15
1- Les lactoprotéines 16
1-1- Les protéines du lactosérum 17
1-2- les caséines 28
2- La matière grasse : les globules gras 33
2-1- Origine et formation des globules gras 33
2-2- Mécanismes de transit et de sécrétion des globules gras 33
2-3- Composition de la membrane du globule gras 34
2-4- Facteurs affectant la stabilité de la membrane du globule gras du lait 41
3- Les lipides du lait de camelin 43
4- Autres composants du lait 43
4-1- L'eau 44
4-2- Les minéraux 44
4-3- Les vitamines 44
4-4-Les sucres 45

Chapitre II: Matériels et méthodes

I-Origine et collecte des laits 47

1-Laits de dromadaire 47
2-Laits de lama 47
3-Autres laits 47
3-1-Laits de chèvre et de vache 47
3-2-Lait de jument 47
3-3-Lait de femme 47

II-Extraction et dosage des différentes fractions protéiques du lait 48

1-Extraction des protéines du lactosérum 48
1-1-Protéines du lactosérum à analyser par électrophorèse bidimensionnelle 48
1-2-Protéines du lactosérum à analyser par Chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC) 48
2-Extraction des protéines de la membrane de globules gras du lait 49
3-Extraction des immunoglobulines 50
3-1-Liaison 50
3-2-Lavage 50
3-3-Elution 50
4- Détermination de la teneur en protéines 50

III- Approche protéomique 50

1- Séparation des protéines 50
1-1-Electrophorèse en Gel de Polyacrylamide en conditions dissociantes et dénaturantes avec le Dodécyl Sulfate de Sodium (SDS-PAGE : Sodium Dodécyl Sulfate Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis) 50
1-2- Electrophorèse en gel bidimensionnelle ou gel 2D 51
1-3-Chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC) 52
2- Les techniques d'analyse protéomique 53
2-1- La carte peptidique massique de la protéine (PMF : Peptide Mass Fingerprinting) 54
2-2- RP-HPLC/ESI-SM 55
2-3- Chromatogaphie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS 56
3- Analyse des données par des outils de bioinformatique 57
4- Séquençage de novo 59
5- Western blot 59
5-1- Détection de la lactadhérine 59
5-2- Détection des immunoglobulines 60

IV-Approche moléculaire 60

1-Extraction de l'ARN 60
2-Analyses qualitative et quantitative de l'ARN 61
3- Transcription reverse suivie d'une polymérisation en chaine (RT-PCR) 62
4- PCR (Réaction en Chaine par Polymérase) 63
5- Analyse des produits de PCR 63

Chapitre III: Résultats et Discussion

Partie I : Caractérisation des protéines majeures du lait des Camélidés 64

I- Introduction 64

II-Résultats 64

1- Analyse des protéines majeures du lait des Camélidés par RP-HPLC/SDS-PAGE 64
1-1- Séparation et identification des protéines majeures 64
1-2- Quantification des protéines éluées 73
2- Analyse des protéines majeures du lait des Camélidés par RP-HPLC/ESI-MS 74

III-Discussion 78

1-Analyse comparative des protéines majeures du lait de Camélidés identifiées par RP-HPLC/SDS-PAGE 78
2- Détermination des masses précises des protéines majeures du lait de Camélidés identifiées par RP-HPLC/ESI-MS 78
3-Composition en lactoprotéines des Camélidés 80

IV-Conclusion 81

Partie II : Caractérisation des protéines du lactosérum du lait des Camélidés 82

I- Introduction 82

II-Résultats 83

1- Analyse des protéines du lactosérum des Camélidés par RP-HPLC/ESI-MS 83
2- Séquençage de novo de l'α-lactalbumine à partir du lait de lama 84
3- Analyse des protéines du lait de dromadaire par électrophorèse 88
3-1-Comparaison des protéines du lactosérum des différentes espèces par électrophorèse monodimensionnelle 89
3-2- Identification des protéines du lactosérum de lait de dromadaire par électrophorèse bidimensionnelle suivie de MALDI-TOF 89
4- Détection des immunoglobulines camélines par Western blot 93
5-Analyse des protéines du lait de lama par LC-MS/MS 95

III-Discussion 96

1- Analyse des protéines du lactosérum des Camélidés par RP-HPLC/ESI-MS 96
2- Analyse des protéines du lait de dromadaire par électrophorèse 97
3- Les immunoglobulines du lait de dromadaire 98
4- Protéines du lactosérum du lait de lama identifiées par LC-MS/MS 99

IV- Conclusion 99

Partie III : Caractérisation des protéines de la membrane du globule gras du lait 100

des camélidés

I- Introduction 100

II- Résultats 100

1- Caractérisation des protéines majeures de la membrane de globules gras du lait de dromadaire 100
1-1- Protéines majeures de la membrane de globules gras du lait de dromadaire 100
1-2- Identification des protéines de la membrane de globule gras du lait de dromadaire par LC-MS/MS 103
1-3- Identification des protéines de la membrane de globule gras du lait du lama par LC-MS/MS 104
2- Comparaison des protéines majeures de la membrane de globules gras du lait chez deux camélidés : le dromadaire et le lama 105
2-1- Séparation des protéines de la membrane de globules gras du lait des Camélidés par SDS-PAGE 10% 105
2-2-Amplification de la lactadhérine des Camélidés 106

III-Discussion 107

1- la lactadhérine, protéine majeure de la membrane de globule gras 107
2- Protéines associées à la membrane de globules gras de dromadaire 108
3- Protéomique de la membrane de globule gras: Identification de nouveaux partenaires de la sécrétion lipidique dans la cellule épithéliale mammaire 108

IV-Conclusion 110

Conclusion générale et perspectives 111

Références bibliographiques 115

Annexes 140
Publications

Liste d'abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
ADNc: Acide désoxyribonucléique complémentaire
ARNr: Acide ribonucléique ribosomique
BTN: Butyrophiline
Ca : Calcium
Cl: Chlorure
CLDs : Cytoplasmic Lipid Droplets
Cu: Cuivre
ESI-MS: Electrospray-Mass Spectrometry
EST: Expressed Sequence Tag
FABP: Fatty Acid Binding Protein
FAO: Food and Agriculture Organization
FAS: Fatty Acid Synthase
Fe: Fer
GC/MS: Gas Chromatography/Mass Spectrometry
GLYC CAM1: Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1
Ig: Immunoglobulines
K: Potassium
KDa: kilo Daltons
LC: liquid Chromatography
LC-MS/MS: Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry
LDH: Lactadhérine
Mg : Magnésium
P : Phosphate
PAS : Periodic Acid/Schiff
Pb: Plomb
PCR : Polymerase Chain Reaction
PGRP : Peptidoglycan Recognition Protein
pI : point isoélectrique
PP3 : Protéose Peptone 3
RE: Réticulum Endoplasmique
RP-HPLC: Reversed phase coupled to High-performance liquid chromatography

SDS-PAGE : Sodium Dodecyl Sulfate - Polyacrylamide gel electrophoresis
SNAP-23 : Synaptosomal-associated protein 23
SNARE: Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein REcepto
TFA : Acide trifluoroacétique
UA: Unité Arbitraire
V: volt
WAP: Whey Acidic Protein
WBP : Whey Basic Protein
XDH : Xanthine Désyhdrogénase
XO: Xanthine Oxydase
Zn: Zinc

Liste des acides aminés

Acide aminé	Abréviation en trois lettres	Abréviation en une lettre
Arginine	Arg	R
Aspartate ou Acide aspartique	Asp	D
Asparagine	Asn	N
Glutamine	Gln	Q
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Phénylalanine	Phe	F
Tryptophane	Trp	W

Liste des figures

Partie I: Synthèse bibliographique **Pages**

Figure 1: Taxonomie des Camélidés 4

Figure 2 : Distribution mondiale des Camélidés 6

Figure 3: Répartition de la production laitière mondiale 9

Figure 4: Production moyenne du lait durant la lactation des dromadaires 13

Figure 5 : Taux moyen de la production laitière journalière des dromadaires 15

Figure 6: Teneur en protéines (g/l) du lait de neuf espèces 17

Figure 7 : Alignement de la séquence de l'α-lactalbumine chez différentes 20

Figure 8: Représentation schématique des différentes variétés et fragments d'anticorps 23

Figure 9 : Représentation schématique de la micelle de caséine 32

Figure 10 : Résumé des voies de transit et de sécrétion de la gouttelette lipidique des cellules épithéliales mammaires 34

Figure 11 : Schéma représentatif de la structure de la membrane du globule gras 35

Figure 12 : Schéma représentatif de différents domaines de la Muc 15 (ou PASIII) 38

Figure 13 : Schéma représentatif de différents domaines de la XDH/XO 39

Figure 14 : Schéma représentatif de différents domaines de la butyrophiline 40

Partie II: Matériels et méthodes

Figure 15: Exemple d'un spectre MALDI et d'un spectre MS/MS 53

Figure 16 : Procédure de RT-PCR par le kit Super ScriptIII 62

Partie III : Résultats et discussion

Figure 17 : Profil comparatif de séparation des protéines du lait de dromadaire et de lama par RP-HPLC 65

Figure 18 : Séparation par SDS-PAGE 15% des fractions éluées par RP-HPLC du lait écrémé du dromadaire et du lama 70

Figure 19: Fractionnement sur gel SDS-PAGE 15% des protéines du lait écrémé de lama et de dromadaire 73

Figure 20: Quantification des protéines majeures du lait chez les Camélidés 73

Figure 21: Analyse des protéines du lait de lama et de dromadaire par la technique de RP-HPLC/ESI-MS 74

Figure 22 : Analyse des protéines du lactosérum du lait de dromadaire et de lama par RP-HPLC/ESI-MS 83

Figure 23 : Séquençage *de novo* de l'α-lactalbumine de dromadaire et de lama analysés par LC-MS/MS : Chromatogramme des ions totaux des peptides issus de la digestion de l'α-lactalbumine 85

Figure 24 : Séquençage de novo de l'α-lactalbumine de lama analysée par LC-MS/MS : Spectre de masse de dissociation induite par collision de peptides par spectre de masse en tandem 86

Figure 25: Alignement de la séquence de l'α-lactalbumine chez différentes espèces 87

Figure 26 : Séparation des protéines du lactosérum du lait de dromadaire, de vache et de chèvre sur un gel SDS-PAGE 12,5% 87

Figure 27 : Séparation des protéines du lactosérum du lait de dromadaire sur un gel bidimensionnel avec une gamme de pH de 4-7 89

Figure 28: Séquence en acides amines de la lactophorine 92

Figure 29 : Séparation des immunoglobulines purifiées du lait de dromadaire et de femme (2) sur un gel SDS-PAGE 12,5% 93

Figure 30: Détection des Ig G dans les protéines du lactosérum de dromadaire par « goat anti-rabbit Ig G » et par « goat anti-mouse Ig G M » 94

Figure 31 : Détection des immunoglobulines par « goat anti-rabbit Ig G » du colostrum de dromadaire et du lait de dromadaire à différents stades de lactations 93

Figure 32 : Détection des immunoglobulines par « goat anti-rabbit Ig G » du lait de dromadaire et de femme 95

Figure 33: Séparation du lait dilué cinq fois du lama par SDS-PAGE GEL 10 96

Figure 34: Migration des protéines du lait et des protéines de la membrane des globules gras du lait de dromadaire sur un gel SDS-PAGE 10% 101

Figure 35: Séparation sur gel SDS-PAGE 6% des protéines de la membrane de globule gras du lait de différentes espèces 102

Figure 36: Identification de la lactadhérine par western blot 102

Figure 37: Localisation cellulaire des protéines identifiées de la membrane de globules gras du lait de dromadaire 104

Figure 38 : Séparation de 20µg de protéines de la membrane de globules gras su lait 105

de dromadaire et du sur le gel SDS PAGE 10%

Figure 39 : séparation de 25 µg des protéines de la membrane de globule gras du lait de dromadaire et du lama (3, 4) sur SDS-PAGE 10% 106

Figure 40: Electrophorégramme de produits de PCR de la lactadhérine lamine et cameline 107

Résumé

Le lait est connu par sa valeur nutritionnelle et son excellent pouvoir protecteur contre les infections. Il contient des composants solubles et cellulaires qui fournissent des nutriments essentiels. Les laits de différentes espèces diffèrent selon leur composition en protéines.

Malgré leur richesse et leur production, les laits de dromadaire et du lama demeurent des produits relativement peu consommés et transformés car insuffisamment étudié et mis en valeur. L'objectif de cette étude était d'étudier et de comparer la composition en protéines des différentes fractions du lait du dromadaire et du lama.

Les protéines du lait écrémé de dromadaire et de lama ont d'abord été caractérisées par une technique de séparation en deux dimensions couplée à la chromatographie liquide en phase liquide à haute performance en première dimension suivie de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en deuxième dimension (RP-HPLC -SDS- PAGE).

Les protéines majeures du lait, les caséines αs_1, αs_2, β et κ ainsi que quelques protéines du lactosérum telles que l'α-lactalbumine, la lactoferrine et la sérum albumine ont été identifiées par carte d'empreinte peptidique.

Les protéines du lait du lama et du dromadaire ont été aussi caractérisées par Chromatographie Liquide à Haute Performance en Phase inverse couplée à la Spectrométrie de Masse d'Ionisation Electrospray. Cette approche nous a permis d'attribuer les masses moléculaires précises pour la majorité des protéines identifiées précédemment par la spectrométrie de masse. De même, grâce à la technique d'électrophorèse bidimensionnelle sur gel (2-DE), nous avons pu identifier plus de 45 spots de protéines présentes dans le lactosérum du lait de dromadaire.

Le séquençage de novo de l'α -lactalbumine du lama par la Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem (LC-MS/MS) a montré la présence de deux substitutions d'acides aminés (R62L / I et K89L / I).

Puisque les données sur la membrane de globules gras du lait des Camélidés sont inexistantes , nous avons utilisé dans la dernière partie de ce travail l'outil 1D- LC-MS/MS qui a permis d'identifier 322 et 187 groupes fonctionnels de protéines associées à la membrane de globules gras du lait de dromadaire et du lama respectivement.

Mot clés: Camélidés, Protéines du lait, caséines, Chromatographie liquide, Ionisation electrospray, Spectrométrie de masse.

Abstract

Milk is known to provide an excellent nutrition and protection against infection. It contains a range of soluble and cellular components which provide essential nutriments. Milks from different species differ significantly as to their protective proteins content which plays a role in the protection to the developing animal and/or human.

In spite of their richness and their considerable production, dromedary and llama milks remain products relatively not much consumed and transformed because insufficiently studied and emphasized. The objective of this study was to investigate and compare the protein composition of the different fractions of llama and dromedary milk.

Skimmed llama and dromedary milk proteins were first characterized by a two dimensional separation technique coupling Reverse Phase High Pressure Liquid Chromatography in the first dimension with sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis in the second dimension (RP-HPLC-SDS-PAGE). Milk proteins: caseins (α_{s1}, α_{s2},β and κ caseins.) and some whey proteins like α-lactalbumin, lactoferin and serum albumin were identified using peptide mass fingerprinting.

Llama and dromedary proteins milk were also characterized by on-line Reverse Phase High Pressure Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Mass Spectrometry (LC-ESI-MS) analysis. This approach allowed attributing precise molecular masses for most of the previously MS-identified milk proteins.

We reported also the successful use of the Two-Dimensional gel Electrophoresis (2-DE) tool to identify over 45 protein spots present in the dromedary whey milk. De novo sequencing of the llama α-lactalbumin protein by Liquid Chromatography coupled with tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) showed the occurrence of two amino acid substitutions (R62L/I and K89L/I).

Because in camelids, nothing is known about the milk fat globule membrane (MFGM), we used 1D-LC-MS/MS to identify 322 and 187 functional groups of proteins associated with dromedary and llama milk respectively.

Key words: Camelids, Milk proteins, Caseins, Liquid chromatography, Electrospray ionisation, Mass spectrometry.

Introduction générale

Introduction générale

Le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme, en raison, d'une part, de sa composition équilibrée en protéines, glucides et lipides et, d'autre part, grâce à sa richesse en vitamines et en minéraux.

Le lait camelin est d'un grand apport pour la santé humaine. Il est utilisé pour ses vertus thérapeutiques: anticancéreuses, antimicrobiennes, antidiabétiques,...

Parmi les Camélidés, le dromadaire est une composante importante de l'écosystème désertique, son lait constitue depuis longtemps la principale ressource alimentaire pour les peuples nomades. En effet, le lait de dromadaire est bien apprécié par la population du Sud Tunisien qui le recherche en raison de ses vertus thérapeutiques dans la médecine traditionnelle. Toutefois, malgré sa richesse et sa production non négligeable, le lait de dromadaire demeure un produit relativement peu consommé et peu transformé car insuffisamment étudié et mis en valeur.

De même, et malgré son importance économique et son élevage pour le transport des marchandises, sa laine et sa viande, très peu d'études sont publiées à ce jour sur le lait de lama, petit Camélidé de l'Amérique du sud. Des études préliminaires se sont limitées à la détermination des taux de matière grasse, de protéines et des minéraux chez cette espèce (Morin et *al*., 1995 (a,b), Riek et Gerken., 2006).

Les analyses du lait de vache et du lait humain ont montré que ces laits renferment un très grand nombre de protéines dans leur phase aqueuse (caséines et protéines du lactosérum) mais aussi dans la fraction associée aux lipides du lait (globules gras). Cependant, les données sont limitées pour le lait des Camélidés. Des travaux ont été réalisés sur les fractions caséiques et sur les protéines solubles du lait de dromadaire (Kappeler *et al*, 1998), mais très peu de données sont disponibles sur le lait de lama, et aucune donnée n'existe pour le lait camelin et lamin à ce jour sur les protéines associées aux globules gras.

Dans le but d'améliorer nos connaissances relatives aux protéines du lait des Camélidés, un travail a été mené afin de générer de nouvelles données concernant le lait de dromadaire et de lama en utilisant les outils modernes de la protéomique et de la biologie moléculaire. Les données obtenues ont été comparées à celles existantes sur les laits issus d'autres espèces (femme, vache, chèvre et jument).

Ce travail a pour objectif d'améliorer l'état des connaissances sur les composantes du lait des Camélidés par une caractérisation de sa composition protéique pour une meilleure valorisation.

Le présent manuscrit est structuré en quatre parties:

La première partie est consacrée à une étude bibliographique introductive à cette thèse qui fera le point sur :

- La présentation des Camélidés (taxonomie, répartition géographique et génétique des Camélidés).
- La composition globale du lait des Camélidés (dromadaire et lama).
- La composition fine du lait de dromadaire.

La deuxième partie est consacrée à la description du matériel et des outils utilisés pour déterminer la caractérisation des protéines du lait (caséines, protéines du lactosérum et protéines de la membrane de globule gras) des Camélidés.

La troisième partie présente les résultats obtenus avec une discussion pour chaque fraction du lait analysée.

La quatrième partie est une conclusion générale des travaux entrepris. Il s'agit d'une mise en valeur de la finalité de cette thèse : la contribution à la connaissance de la composition protéique du lait de deux espèces de Camélidés : le dromadaire (*Camelus dromedarius*) et le lama (*Lama glama*).

Ce travail a fait l'objet de :

- Deux publications:

Besma Saadaoui, Céline Henry, Touhami Khorchani, Mohamed Mars, Patrice Martin and Christelle Cebo (2013). Proteomics of the milk fat globule membrane from *Camelus dromedarius.* Proteomics 13: 1180-1184.

Besma Saadaoui, Leonardo Bianchi, Céline Henry, Guy Miranda, Patrice Martin and Christelle Cebo (2013). Combining proteomic tools to characterize the protein fraction of llama (*Lama glama*) milk. Electrophoresis, sous presse.

- Un manuscrit en préparation :

SAADAOUI Besma, KRUPOVA Zuzana, BIANCHI Leonardo, El-BENNA Jamel, MARTIN Patrice and MARS Mohamed (2013). Analysis of protein fraction of dromedary milk using proven proteomic tools.

Chapitre I.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

I. Présentation des Camélidés

Les Camélidés, et le dromadaire en particulier, sont des animaux hyper adaptés aux conditions désertiques. Le dromadaire résiste à la sécheresse (Wilson., 1998), à la chaleur, à la soif (Bengoumi et Faye., 2002) ainsi qu'à l'apport insuffisant en protéines, en énergie (Bengoumi et *al*., 2005) ou en éléments minéraux (Faye et *al* ., 2006).

1. Taxonomie des Camélidés

Les Camélidés sont des mammifères artiodactyles[1]. De tous les artiodactyles de notre époque, les Camélidés sont les seuls tylopodes[2]. La famille des Camélidés comprend actuellement trois genres et sept espèces (Figure 1).

Saint Martin et *al*., 1990 et Faye, 1997 ont signalé que les Camélidés d'Asie, confrontés au froid et à l'aridité comme dans le désert de Gobi, évoluèrent en chameau à deux bosses (chameau de Bactriane (*Camelus bactrianus*)). Ceux qui se déplacèrent dans les régions chaudes et arides, Afrique et Moyen-Orient, évoluèrent en chameau à une bosse : le dromadaire (*Camelus dromedarius*).

Les quatre espèces de Camélidés de l'Amérique de Sud connus jusqu'à maintenant sont les deux espèces sauvages (Guanaco : *Lama guanicoe* et Vicugna : *Vicugna vicugna*) et les deux espèces domestiques (Alpaga : *Vicugna pacos* et Lama : *Lama glama*).

Jusqu'à récemment, l'alpaga était considéré comme une espèce appartenant au genre *Lama*.

Toutefois, en utilisant les ADN mitochondriaux et les ADN microsatellites, Kadwell et *al*., 2001, ont montré que l'alpaga avait pour ancêtre la vigogne. Cette espèce a donc été renommée *Vicugna pacos*.

[1] Mammifères à sabot ayant un nombre pair de doigts à chaque sabot

[2] Mammifères ruminants portant des bosses dorsales

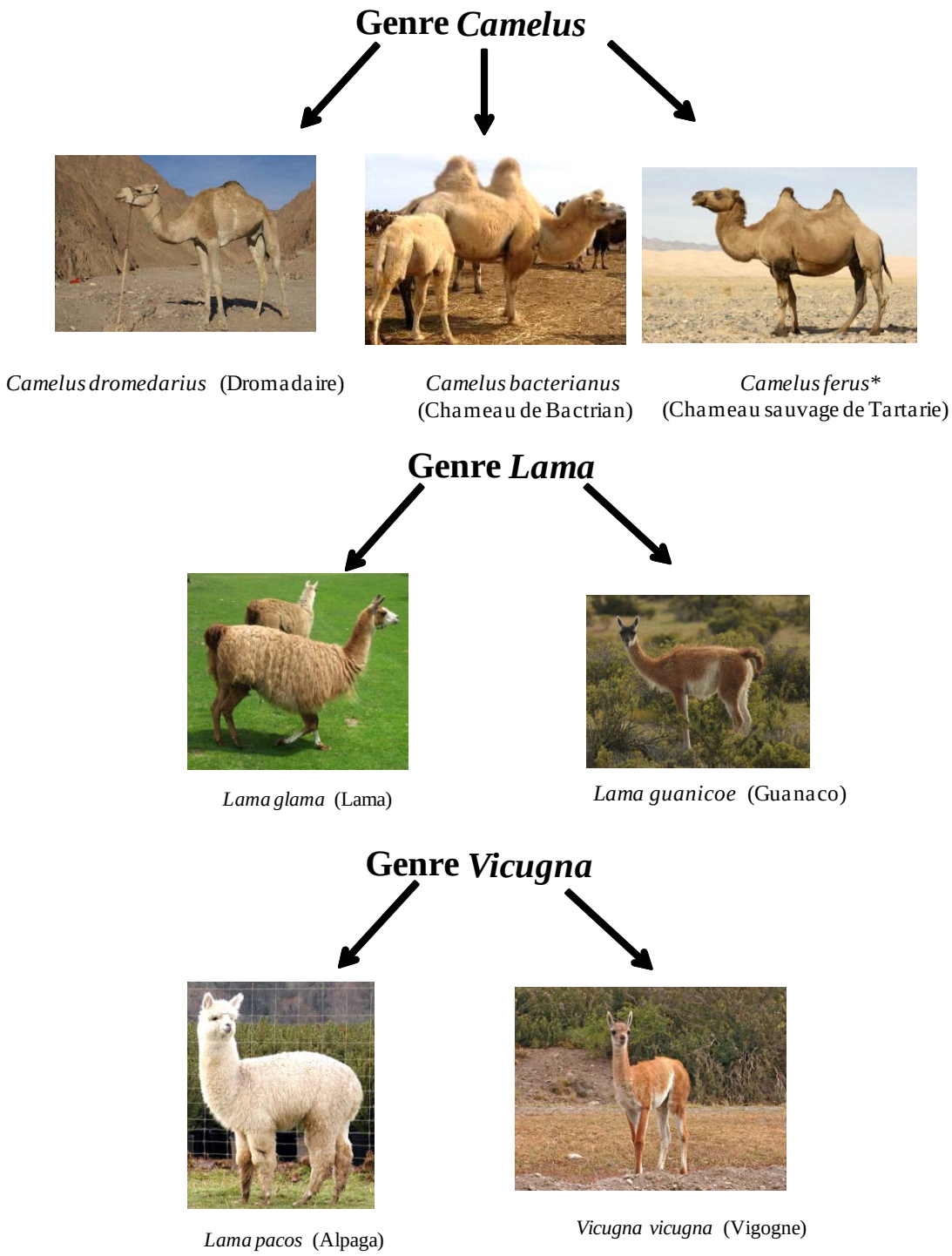

Figure 1. Taxonomie des Camélidés

* Espèce reconnue depuis peu, considérée comme la sous-espèce *Camelus bactrianus ferus* du chameau de bactrien

2. Répartition géographique des Camélidés

2.1. Généralités

L'aire initiale de distribution du dromadaire est bien entendu associée aux caractéristiques climatiques du milieu.

En 2003, la population cameline mondiale s'élevait à 19 millions de têtes (genre *Camelus*) dont plus de 15 millions se situent sur le continent Africain, et 3,6 millions en Asie (*Food and Agriculture Organization* « FAO », 2003).

Des statistiques plus récentes (FAO, 2010) évaluent la population caméline mondiale à plus de 32 millions de têtes dont plus de 24 millions sont du genre *Camelus*. La majorité de cette population est formée de dromadaires qui se trouvent dans les régions arides du Nord et du Nord Est de l'Afrique et la plus large population (7 millions) est trouvée en Somalie (Figure 2). Les dromadaires sont plus nombreux que les chameaux de Bactriane ; ils représentent presque 90% du genre *Camelus* (Al Swaileme et *al*., 2010).

Les chameaux de Bactriane vivent dans les régions froides de l'Asie. Les données archéologiques montrent que les bactriens domestiques étaient présents dans le troisième millénaire avant Jésus-Christ, puis ils se sont ensuite propagés dans toute l'Asie Centrale (Peters et Driesch 1997). Les bactriens sauvages (*Camelus bactrianus ferus*) sont les seuls chameaux survivant de l'ancien monde des camélidés, il y a actuellement 730 à 880 têtes qui occupent le Nord Ouest de la Chine et le Sud Ouest de la Mongolie et plus précisément les déserts de Gobi (Yuan et *al*., 2002). Enfin, en Australie, il y a également environ 25 000 dromadaires qui ont été introduits au dix-neuvième siècle (Mburu et *al*., 2003).

Les Camélidés de l'Amérique du Sud sont de deux types : les Camélidés domestiques, les lamas, qui représentent la population la plus large et les alpagas, qui sont de plus petite taille. On trouve aussi des petits Camélidés sauvages, les guanacos et les vigognes. Ces derniers sont menacés car chassés pour leurs viandes et leurs peaux.

D'après la FAO (2010), il existe plus de 7,9 millions de ces petits Camélidés. Plus de 2,8 millions sont localisés en Bolivie et 5,1 millions en Pérou (Figure 2).

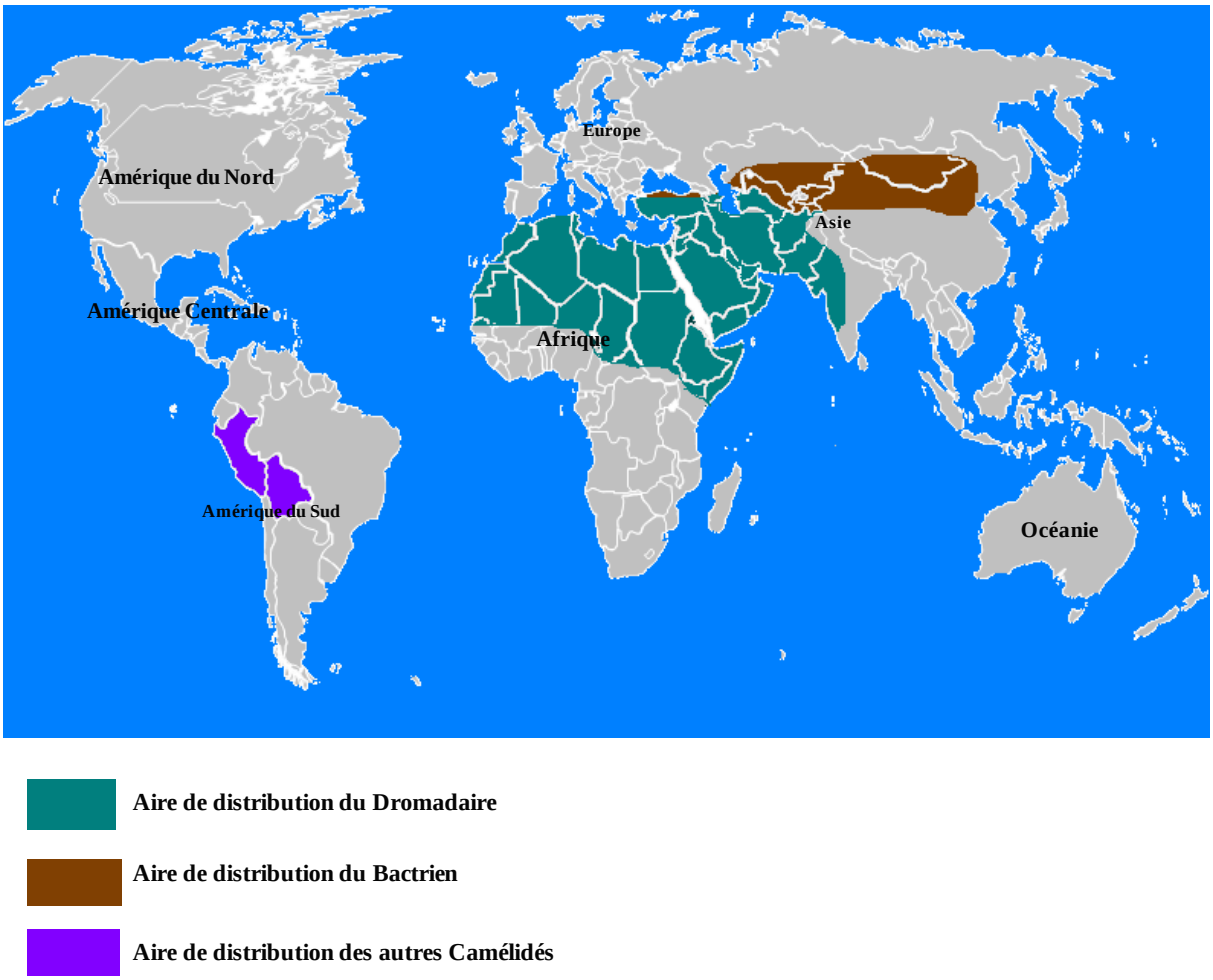

Figure 2. Distribution mondiale des Camélidés (Source : FAO, 2010)

2.2. Les Camélidés en Tunisie

En Tunisie, le nombre de Camélidés est actuellement estimé à 235000 têtes et la population est majoritairement de race Maghrebi. L'élevage camelin en Tunisie est l'un des maillons important de l'économie grâce à sa multifonctionnalité. Il est destiné essentiellement à la production de la viande, qui constitue une part importante dans la consommation de la viande rouge dans certaines régions du Sud Tunisien. La production laitière reste secondaire, elle est estimée à deux litres par jour et par animal (Moslah, 1998). La laine cameline est aussi considérée comme une production secondaire ainsi que les excréments qui constituent des fertilisants naturels pour les parcours pastoraux (Ould Ahmed, 2009).

3. Génétique des Camélidés

3.1. Diversité génétique chez le dromadaire

La diversité génétique a été peu étudiée dans les populations de Camélidés. Afin d'investir l'analyse de la diversité et des relations phylogéniques entre les populations de dromadaires dans trois régions arides du Sud Tunisien (Kebili, Médenine et Tataouine), Ould Ahmed et *al*., 2010 ont utilisé huit microsatellites (régions répétées de l'ADN). L'amplification de ces microsatellites et leur séparation sur gel d'électrophorèse ont permis de distinguer les allèles en fonctions de leur taille.

Trente quatre allèles ont été détectés dans les trois populations où le nombre d'allèles par locus varie de 2 à 7. Ces résultats ne confirment pas la classification actuelle établie par les éleveurs mais les reclassent plutôt en deux entités génétiques : le groupe Nefzawa (Kebili) qui inclut les races Merzougui, G'oudi et Mehari et le groupe de Arradh (Médenine et Tataouine) qui comporte les races Khaouar et Maghrebi.

Grâce à cette étude, il a été mis en évidence chez les dromadaires en Tunisie un niveau élevé de diversité génétique, principalement d'origine intrapopulation (92%). Malgré le faible taux de consanguinité (15%) que présente cette population et les différences suivant les régions, les populations de dromadaires étudiées partagent une grande base génétique (Ould Ahmed, 2009).

Mburu et *al*., 2003 ont utilisé quatorze microsatellites pour étudier quatre races kenyanes de dromadaire (Somali, Turkana, Rendille, Gabbra), dromadaire du Pakistan et de la péninsule Arabique (Arabie Saoudite, Emirats Arabes Unis). Leurs résultats ne confirment pas la classification des dromadaires indigènes au Kenya en quatre races distinctes fondées sur des critères sociogéographiques mais les reclassent plutôt en deux entités génétiques distinctes: le Somalien, et un groupe comprenant les populations Gabbra, Rendille et Turkana.

En conclusion, le concept de race de dromadaire est très discutable. Des études récentes d'Abdallah et Faye, 2012, proposent même de classer les races de dromadaires de neuf régions différentes de l'Arabie Saoudite en se basant plutôt sur des mesures corporelles (mesure de la longueur de la tête, du cou et des trayons de l'animal).

3.2. Séquençage des génomes

Malgré l'importance économique, culturelle et biologique du dromadaire, le génome du dromadaire n'était pas disponible. Al-Swailem et *al*., (2010) ont lancé très récemment un projet de séquençage du génome de cette espèce. Ces auteurs ont pu séquencer 70 272 EST (Expressed Sequence Tags) à partir des ADNc de trois dromadaires et par la suite établir une base de données accessible au public (http://camel.kacst.edu.sa/). Cette bibliothèque représente un outil essentiel pour l'annotation et l'assemblage du génome entier de dromadaire où 4500 séquences décrites ne portaient aucune homologie avec tout autre génome qui était disponible.

Des études plus récentes (The Bactrian Camels Genome Sequencing and Analysis Consortium 2012) ont montré que le génome des bactriens (sauvages et domestiques) contient 2,38 Gb (Giga bases= milliards de paires de bases) contenant 20 821 gènes codants pour les protéines, soit en moyenne 8 exons et une région codante de 1 322 pb par gène.

En 2008, le génome d'un alpaga a été complètement séquencé et il est actuellement accessible au public sur le site (http://www.ensembl.org/Vicugna_pacos/Info/Index).

Actuellement des membres de l'équipe de l'Institut National du Cancer à l'Université de Washington à St.Louis et l'Université de Binghamtom, tentent d'assembler les séquences produites en contigs (séquences génomiques continues et ordonnées générées par l'assemblage des clones d'une bibliothèque génomique) pour les comparer par la suite aux autres séquences complètes de génomes entiers des autres espèces qui sont déjà publiées.

II. Le lait des Camélidés

1. Place du lait des Camélidés dans la production mondiale

En 2010, la production laitière, toutes espèces confondues, a été estimée à 721 millions de tonnes (FAO, 2010). Cette production est dominée par la production bovine (Figure 3).

La production mondiale de lait camelin est estimée officiellement à 1,3 millions de tonnes en 2002. Elle atteint 2,2 millions de tonnes en 2010. Cette production est plus élevée actuellement en tenant compte de l'autoconsommation et du réel potentiel moyen des animaux en production. Toutefois, la répartition de la production laitière cameline est très hétérogène ; en Somalie, elle représente par exemple 57,82 % (FAO, 2010) de la production laitière totale (FAO, 2008, 2010)

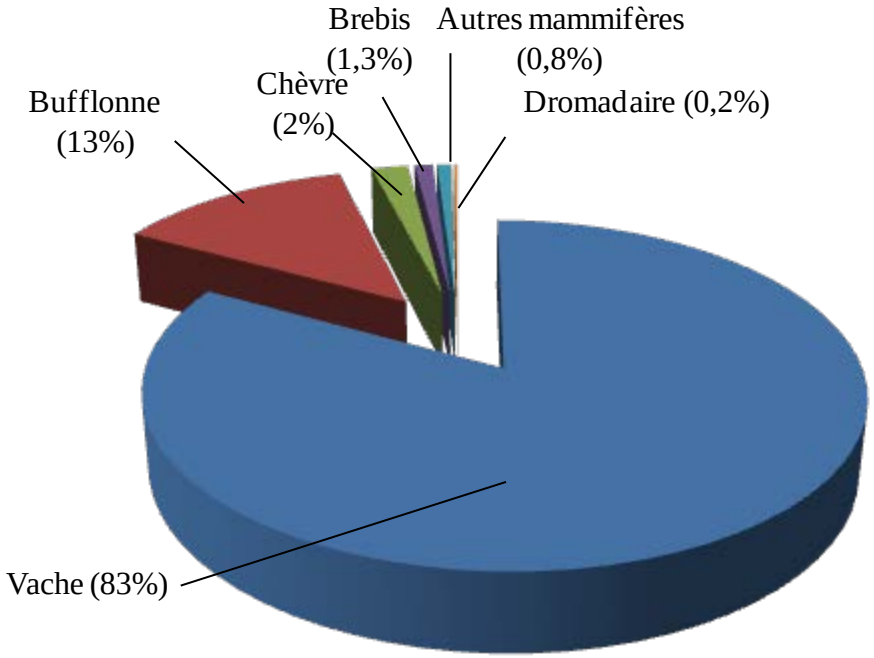

Figure 3. Répartition de la production laitière mondiale (Source : FAO 2010)

2. Utilisation du lait des Camélidés

Le lait camelin est « l'or blanc du désert » (Wernery, 2006). En fait, les dromadaires et les bactriens sont considérés comme source de production du lait dans les pays en zones arides et semi arides, ils produisent plus de lait durant une longue période sous des conditions extrêmes que les autres mammifères (Farah et Younan et *al*., 2005). L'hybridation entre les dromadaires et les bactriens est entreprise afin d'améliorer la production laitière chez les chameaux à deux bosses (Faye et *al*., 2008).

Par contre, la traite des lamas est occasionnelle, le lait n'est consommé que par la communauté andine et le marché est peu développé dans ce domaine (Faye et Konuspeyeva., 2012).

On constate que les produits dérivés du lait camelin sont presque inexistants à l'échelle mondiale. En effet, le lait camelin est consommé à l'état frais par les populations nomades. En revanche, en Kazakhstan, il est consommé à l'état fermenté sous le nom de « Shubat » (Konuspayeva et *al*., 2003).

La transformation du lait de dromadaire en beurre et en fromage est réputée très délicate. Mais, il a été possible de fabriquer des fromages de différents types de pâtes à partir

du lait de dromadaire dans des conditions satisfaisantes malgré la difficulté de ce lait à coaguler qui peut être expliquée par la spécificité de sa composition protéique (Ramet, 1987).

3. Composition globale du lait des Camélidés

3.1. Composition du lait de dromadaire

Le lait camelin est caractérisé par sa richesse en vitamines antioxydants A, B_2, C et E ainsi qu'en magnésium (Mg). Konuspayeva et *al*., 2009 ont réalisé une méta-analyse de la littérature (plus de 80 références) afin d'estimer la composition grossière du lait camelin. Ils ont rapporté les teneurs moyennes du lait en matière grasse (3,22 ± 1,08 g/100 ml), protéines totales (3,35 ± 0,62 g/100 ml), lactose (4,46 ± 1,03 g/100 ml), matière sèche (12,47 ± 1,53 g/100 ml) et cendres (0,79 ± 0,09 g/100 ml).

Le tableau 1 représente la variation de la composition grossière du lait camelin au Kazakhstan (56 bactriens, 70 dromadaires, et 20 hybrides élevés dans les mêmes conditions).

La variation de la composition du lait camelin dépend de la saison, de l'origine géographique (Tableau 2), de la race et de l'espèce. Le lait de chameau de Bactriane est beaucoup plus riche en matière grasse que celui du dromadaire (Zaho, 1998). Les études de Faye et *al*., 2008, ont prouvé que la composition grossière chez les chameaux, les dromadaires et leurs hybrides élevés dans les mêmes conditions est variable, ils ont signalé une teneur élevée en matière grasse, protéines totales, vitamine C, calcium, phosphore et une composition faible en lactose chez les chameaux de Bactriane par rapport au dromadaire.

Konuspayeva et *al*. 2010 ont remarqué en analysant la composition du lait de quatre dromadaires en fonction du stade de lactation (chaque mois pendant une durée de 10 mois), que le taux butyreux varie entre 4,34 % et 7,1 % avec une valeur minimale à la quatorzième semaine de lactation. A cette même période, une valeur minimale du taux protéique qui varie entre 2,58 % à 3,64 % a été remarquée. La valeur minimale du lactose (2,56 %) a été observée à la cinquième semaine et la valeur maximale (4,84 %) à la trente-et-unième semaine avec une moyenne de 3,46 %. La concentration de la vitamine C varie entre 48 et 256 mg/l. Elle présente aussi un maximum à la trente-et-unième semaine de lactation.

Pour les minéraux, le rapport calcium/phosphore est constant (1,14-1,43). La concentration du fer varie entre 1 et 2,67 mg/l.

Tableau 1 : Composition (en %) du lait camelin en Kazakhstan (Konuspayeva, 2007)

Espèces	Matière grasse	Protéines totales	Matière sèche	Lactose
Chameau bactrien	6,67±2,93	3,33±0,74	13,07±1,15	2,77±0,96
Dromadaire	5,94±2,26	3,03±0,76	12,39±0,74	3,12±0,92
Hybrides	6,09±1,81	3,28±1,01	11,91±0,74	3,04±0,60

Tableau 2 : Variation de la composition (en %) du lait camelin en fonction de la localisation géographique (Konuspayeva et *al*., 2010)

Région	Matière grasse	Protéines totales	Matière sèche	Lactose	Cendres	effectif
Asie	5,07±0,21	4,02±0,47	13,86±1,97	5,33±0,42	0,79±0,10	11
Afrique de l'Est	4,14±0,080	3,33±0,52	12,69±1,11	4,18±0,72	0,76±0,09	20
Afrique du Nord	3,50±1,01	3,21±0,60	12,53±1,22	4,65±0,67	0,84±0,08	16
Sous contient Indien	3,49±0,85	3,36±0,64	12,05±1,61	4,45±0,74	0,78±0,07	12
Asie de l'Ouest	3,31±1,03	3,10±0,62	11,62±1,29	4,45±0,40	0,78±0,05	17
Indéterminé	3,62±0,81	3,3±0,53	12,22±1,22	4,49±0,77	0,72±0,07	6

3.2. Composition globale du lait de lama

Il existe 3,78 millions de lamas qui vivent en Amérique du Sud (Bolivie et Pérou, principalement). Malgré leur rôle économique important dans ces pays (Göbel., 2011), peu d'études sont disponibles sur la composition laitière de ce petit Camélidé.

Comme chez le chameau bactrien, l'eau présente 84,4% du lait de lama. Ce dernier se caractérise par sa richesse en protéines (4,1%) et en lactose (6,3%) par rapport au lait de dromadaire (Fernandez et Olivier, 1992).

4. Le lait de dromadaire, un médicament efficace ?

Depuis longtemps, le lait de dromadaire est consommé dans les régions arides musulmanes pour des raisons curatives.

Le lait camelin est utilisé en Asie centrale comme traitement adjuvant de la tuberculose humaine, Mal et *al*., 2000 ont confirmé l'amélioration de l'état de patients atteints de tuberculose par ce traitement où des patients tuberculeux en Inde se rétablissent en buvant

un litre par jour. Ces résultats ont été confirmés en Libye avec un effet observable dès la première semaine de traitement avec une cure de 1,5 litres/jour (Alwan et Tarhuni, 2000).

Le lait camelin est connu par ses vertus médicinales aussi dans l'ex Union Soviétique (Kenzhebulat et *al*., 2000) et dans les pays développés (Mal et *al*., 2006). Il aurait des vertus anticancéreuse (Majeed, 2005), antimicrobienne et hypoallergénique (Shabo et *al*., 2005) suite à sa faible teneur en β-caséine et à l'absence de β-lactoglobuline, une protéine hautement immunogène. Au Kazakhstan, le lait camelin est traditionnellement utilisé comme adjuvant à la chimiothérapie de certains cancers, comme reconstituant chez les malades convalescents et dans les états de fatigue et de surmenage (Konuspayeva et *al*., 2004).

Le lait de dromadaire se caractérise par des propriétés antidiabétiques (Argawel et *al*., 2003, 2011). En effet, une équipe israélienne (Zagorski et *al*., 1998) a montré que le lait camelin provoque une baisse de la glycémie. Cette baisse est temporaire puisque le lactose a été converti en glucose et absorbé jusqu'à ce que la teneur du glucose dans le sang revienne à la normale. L'effet antidiabétique a été reporté aussi par Khan et al. (2012).

Récemment, il a été démontré que le lait camelin a un effet protecteur contre la toxicité hépatique induite par le le tétrachlorométhane qui est souvent employé en tant que solvant (Khan et Alzohairy, 2011).

5. Les facteurs de variation de la production et de la composition laitière

Plusieurs facteurs peuvent agir sur la production et la composition du lait de dromadaire. Parmi ceux-ci, on trouve la diversité génétique, le stade de lactation, l'alimentation, les conditions climatiques, la fréquence de traite, le rang de mise bas et l'état sanitaire de l'animal.

5.1. Variabilité génétique et production laitière

La variabilité génétique influe sur la production laitière. En Somalie par exemple, la race Hoor produit en moyenne 8 litres par jour pour une durée de 8 à 16 mois, soit une production de l'ordre de 2 000 litres par lactation. La race Sifdaar produit 6 litres par jour en moyenne pendant 12 mois, soit environ 1 500 litres par lactation. La race Eydimo est capable de fournir 4 litres pendant six à douze mois et assure une production de 1 000 litres environ pour une lactation (Herren, 1993). En Inde, les travaux de Sahani et *al*., 1998 ont montré que les races Bikaneri, Kachchi et Jaisalmeri ont des productions moyennes quotidiennes respectivement de 4,19; 3,94 et 3,72 litres. Le potentiel de production laitière a été également

enregistré chez quatre races de chamelles saoudiennes, pendant trois lactations consécutives, et les productions laitières journalières des différents types ont été comparées. La race Malha a montré le rendement journalier le plus élevé, avec 9,33 kg par tête, suivie par la race Wadha (8,94 kg par tête), la race Safah (8,13 kg par tête) et la race Hamrah (6,83 kg par tête). Un maximum de production laitière journalière de 18,3 et 14 kg par tête a été observé respectivement chez les races Malha et Wadha (Ismaïl et Al-Mutaïri, 1998).

Les races asiatiques sont considérées comme des meilleures laitières que les races africaines. Cependant, peu de données sont disponibles dans ce domaine. Il semble qu'on puisse affirmer l'existence de races à vocation plus laitière que d'autres, mais la pression de sélection dans cette espèce a été de faible ampleur sur ces critères et la variabilité intra-race est probablement très élevée, laissant supposer la possibilité d'une amélioration très notable de la capacité de production.

5.2. Effet du stade de lactation sur la production laitière

Chez la femelle de dromadaire, les teneurs en matières grasses et en protéines évoluent de façon inverse à la quantité de lait produite (El Hatmi et *al*., 2003). Elles sont maximales durant les premiers jours de lactation, minimales durant le pic de lactation (2 ème et 3 ème mois) et s'accroissent ensuite jusqu'à la fin de la lactation. L'augmentation enregistrée durant cette dernière phase est due en partie à l'avancement du stade de gestation, qui diminue la persistance de la production laitière.

La figure 4 montre la variation de la production laitière chez des dromadaires en fonction du stade de lactation. La courbe de lactation atteint un pic de production durant le quatrième mois (8,9kg ± 0,04).

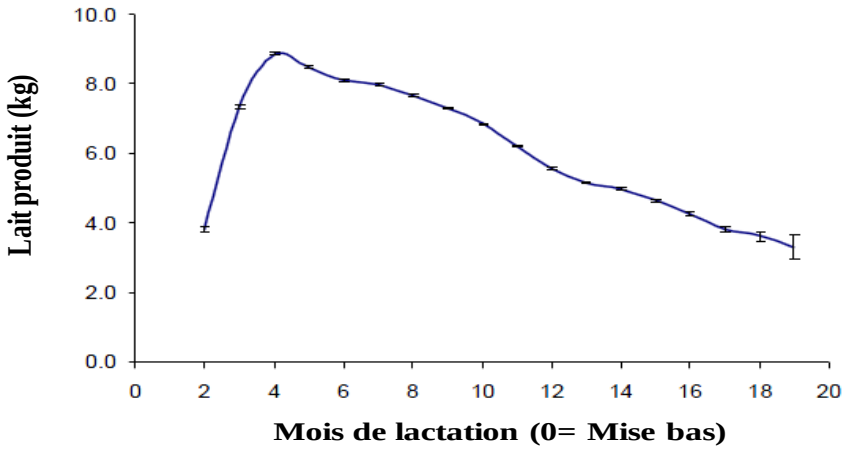

Figure 4: Production moyenne du lait durant la lactation des dromadaires d'après Nagy et al. (2013)

5.3. Effet de l'alimentation sur la production laitière

La synthèse des constituants laitiers dans les glandes mammaires est liée aux apports en énergie et en azote provenant des produits terminaux de la digestion des aliments ingérés. La production laitière dépend de la qualité et de la quantité de l'alimentation, mais elle ne semble pas être affectée sur le plan quantitatif par la privation d'eau. La chamelle maintient la quantité produite après dix jours de déshydratation suivis d'un abreuvement à volonté après une heure, puis suivis à nouveau de dix jours de privation d'eau. En cas de déshydratation, la teneur en eau du lait de chamelle augmente de 86 % à 91 % (Yagil et Etzion., 1980).

Selon le type d'alimentation et la disponibilité de l'eau, le lait de dromadaire peut avoir un gout sucré ou salé (Farah, 1993).

5.4. Effet des conditions climatiques

La variabilité saisonnière de la disponibilité fourragère associée aux facteurs strictement climatiques (chaleur, aridité) joue sur les performances laitières du dromadaire. La différence selon la saison de mise bas des jeunes peut jouer sur plus de 50 % de la production: les performances laitières sont plus faibles en fin de saison sèche qu'en saison des pluies (Khanna et *al*., 1998). En été, il y a une chute de l'extrait sec total du lait de dromadaire à cause de la diminution du taux de la matière azotée et plus précisément du taux de caséines (Kamoun, 1995).

5.5. Effet de la fréquence de traite

L'augmentation de la fréquence de traite accroît la production de lait et sa teneur en matière grasse. Trois traites par jour produisent 5 à 10% du lait et quatre traites par jour donnent jusqu'à 30 % de la sécrétion totale du lait. Par contre la réduction de la fréquence de traite (1,5 traite par jour) réduit la production à 9% de la sécrétion totale du lait (Alshaikh et Salah., 1994). La traite est généralement effectuée deux fois par jour : le matin avant le départ des femelles de dromadaires au pâturage et le soir après le retour au campement, la troisième traite est rare (Faye., 1997).

Nagy et *al*., 2013 ont confirmé que la production laitière est plus importante quand la traite des femelles de dromadaire est de trois fois par jour (Figure 5).

Lors de la traite, le conditionnement de la femelle dromadaire est très important. Avec un individu n'ayant pas l'habitude d'être trait, la libération d'ocytocine en grande quantité sera impossible et il ne sera possible de recueillir que 40% du lait contenu dans les mamelles

(Faye., 2003), d'où l'intérêt de la présence du chamelon lors de la traite pour amorcer la descente du lait et maintenir l'activité de la production laitière. L'éleveur laisse téter le petit quelques secondes puis le retire et prélève manuellement ou à l'aide d'une machine à traire la quantité désirée correspondant à environ 50 % de la production totale, soit en moyenne 1,5 à 3 litres par jour (Xavier et *al*., 2000).

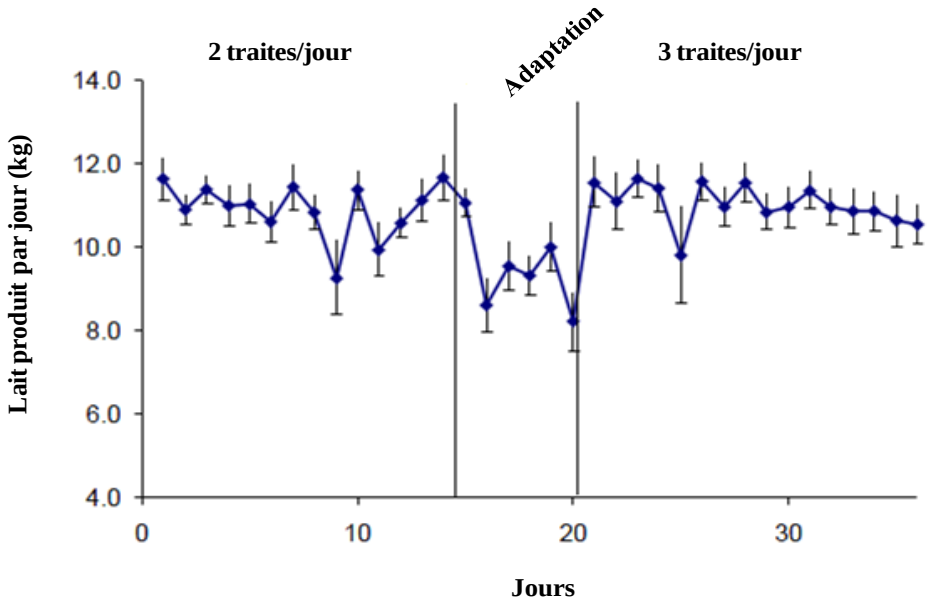

Figure 5. Taux moyen de la production laitière journalière des dromadaires (n=12) avec deux ou trois traites par jour. D'après Nagy et al. (2013)

5.6. Effet du rang de la mise bas

La production laitière augmente avec le rang de mise bas. D'après Bekele et al. (2002), une production très performante de 4,98 kg/jour (± 0,1) est enregistrée au cours de la quatrième lactation et une basse production est observée à la septième lactation.

5.7. Effet de l'état sanitaire

Afin de prévenir les individus contre certaines maladies parasitaires (comme la trypanosomiase, le parasitisme gastro-intestinal et le parasitisme externe) qui interfèrent avec la production, l'utilisation d'intrants vétérinaires (vaccination, déparasitage..) en milieu pastoral est recommandée (Simpkin et *al*., 1997).

III. Composition fine du lait de dromadaire

Le lait est un fluide très complexe de couleur blanchâtre ayant un pH légèrement acide (6,6 à 6,8) et produit par les cellules sécrétrices des glandes mammaires des mammifères femelles. Les principaux constituants du lait sont : l'eau, les glucides (lactose et oligosaccharides), les lipides (essentiellement des triglycérides assemblés en globules gras), les protéines, les minéraux, les vitamines et des composés mineurs (acides nucléiques...).

Le lait sécrété dans les premiers jours après la mise bas s'appelle le colostrum. Ce dernier se caractérise par une concentration très élevée en protéines et plus particulièrement en protéines solubles. Cette caractéristique est en relation avec le système de transmission de l'immunité. Contrairement à l'espèce humaine, le jeune ruminant se trouve dépourvu à sa naissance de défenses immunitaires humorales face aux agressions bactériennes et virales. Il survit grâce à la grande richesse du colostrum maternel en immunoglobulines G (Ig G) (40-100 mg/ml selon les espèces) et grâce à sa faculté d'absorber intactes ces IgG pendant les premières heures de vie, ce qui lui permet d'acquérir rapidement les défenses immunitaires de sa mère.

En l'absence de données sur la composition fine du lait du lama, nous ne parlerons que de la composition fine du lait de dromadaire dans cette partie.

1. Les lactoprotéines

La teneur en protéines du lait varie suivant les espèces (Figure 6). Ainsi, le lait humain contient la plus faible teneur en protéines (10 g/l), alors que le lait de lapine est le plus riche en protéines (200 g/l). Les laits de dromadaire, de vache et de chèvre ont des concentrations intermédiaires en protéines (30 à 36,33 g/l). Le lait contient trois groupes de protéines : les protéines solubles du lactosérum (phase aqueuse), les caséines, qui sont présentes à l'état colloïdal sous forme de micelles, et les protéines de la membrane du globule gras.

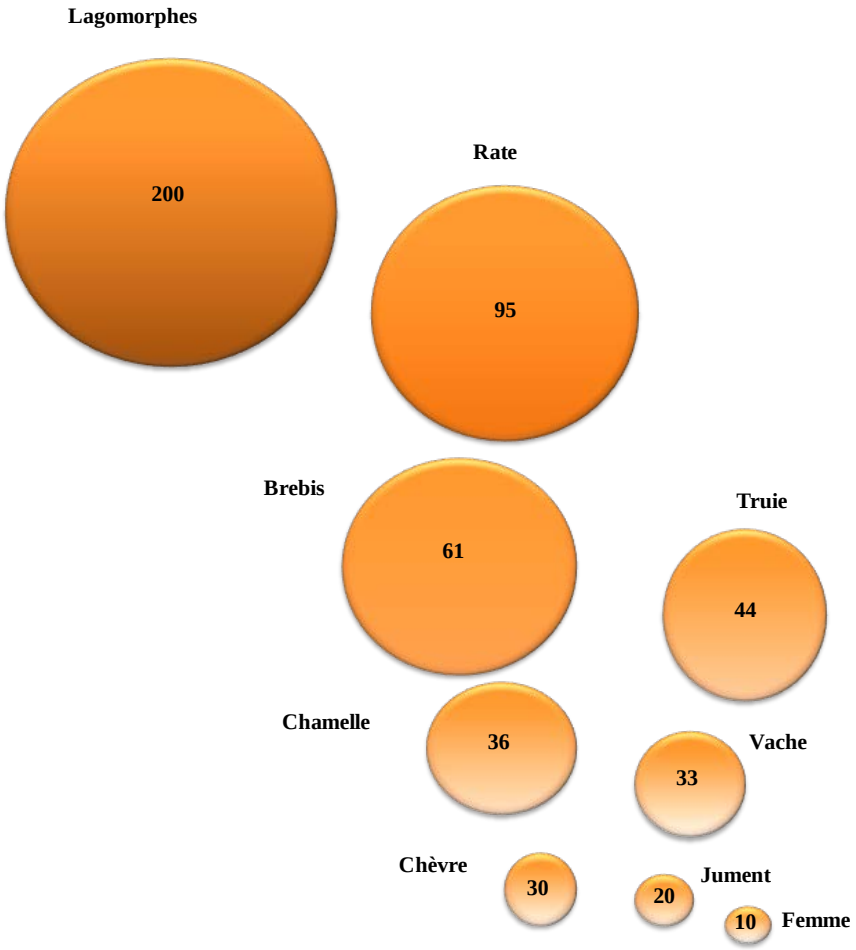

Figure 6: Teneur en protéines (g/l) du lait de neuf espèces (Martin *et al.*, 2003)

1.1. Les protéines du lactosérum

Les protéines du lactosérum représentent la fraction protéique restant soluble lors d'une précipitation à pH 4,6 et à 20°C des protéines du lait écrémé d'origine bovine (Thompson et *al.*, 1965). Ces protéines représentent environ 20% des protéines du lait de vache mais peuvent constituer jusqu'à 60% du lait humain (Hambraeus, 1992). Les protéines du lactosérum camelin représentent 18,5 à 27% des protéines totales (Sood et Sidhu, 1979; Mehaia et *al.*, 1995).

Les protéines majeures du lactosérum sont soit synthétisées dans la cellule épithéliale mammaire (α-lactalbumine, β-lactoglobuline, notamment) ou proviennent directement du sang (sérum albumine et immunoglobulines). Certaines protéines du lactosérum telles que la lactopéroxydase et la xanthine oxidase possèdent une activité enzymatique. D'autres sont des capteurs d'ion $Fe^{2+/3+}$ telles la lactoferrine et la transferrine.

La distribution quantitative des protéines solubles diffère d'une espèce animale à une autre (Tableau 3). La β-lactoglobuline et le lysosyme C sont des protéines de grande importance dans le lait bovin et elles sont absentes dans le lait camelin. La β-lactoglobuline est également absente chez la femme (Brignon et *al*., 1985) et les rongeurs (Green et Pastewka., 1976).

Certaines protéines telles que la Whey Acidic Protein (WAP), le Peptidiglycan Recognition Protein (PGRP) et la Whey Basic Protein (WBP) sont absentes du lait de vache mais elles sont présentes dans le lait camelin (Beg et *al*., 1986, Kappeler et *al*., 2003, Ochirkhuyag et *al*., 1998).

Dans le lait camelin, les principales protéines solubles sont: l'α-lactalbumine, la sérum albumine, la lactophorine A appelée aussi PP3 « protéose peptone 3 », les immunoglobulines, la lactoferrine et la lactoperoxydase.

Tableau 3. Concentration moyenne des différentes protéines sériques du lait de différentes espèces (mg/l) (Kappeler et al., 2003)

Protéine	Chamelle	Vache	Femme	Fonction principale
α-lactalbumine	3500	1260	3400	Synthèse du lactose
β- lactoglobuline	-	3500	-	Liaison et transport des acides gras et du rétinol
Whey acidic protein (WAP)	157	-	-	Régulation dans la croissance épithéliale
lactophorin (PP3)	950	300	-	Inhibition de la lipolyse
lactoferrine	95 ↓↑	300 ↓↑	565 ↓↑	Anti-inflammatoire, nutritive, fixation du fer
lactoperoxydase	-	30	6	Anti-inflammatoire, activité bactéricide
Peptidoglycan recognition protein (PGRP)	107 ↓	-	- ↓	Anti-inflammatoire
Lysozyme C	-	~ 100 ↓↑	274 ↓	Activité bactéricide, N-acetylmuramidase

↓Une variation de concentration de la période colostrale et au cours de la lactation.

↑: Une augmentation de concentration au cours des mammites.

1.1.1. L'α-lactalbumine

L'α-lactalbumine est une petite protéine globulaire contenant 123 résidus d'acides aminés avec une masse de 14,6 kDa chez la vache. L'alignement de la séquence de cette protéine entre différentes espèces est présenté dans la figure 7. Une petite fraction de cette protéine peut être N-glycosylée selon les espèces (Girardet et *al*., 2004). L'α-lactalbumine est la protéine soluble majeure du lait des camélidés (Beg et *al* 1985., Cantisani et *al*., 1990) ainsi que des rongeurs (Vilotte et Soulier., 1992). Cette lactoprotéine est présente chez tous les mammifères à l'exception des otaries à fourrure (Sharp et *al*., 2008).

L'α-lactalbumine intervient dans la biosynthèse du lactose (Hill et *al*., 1968). En effet, elle permet la synthèse du lactose dans la glande mammaire en augmentant plus de mille fois l'affinité de l'UDP-galactosyltransférase pour le glucose. Le complexe α-lactalbumine et l'UDP-galactosyltransférase forme la lactose synthétase (Ebner et Brodbeck., 1968).

L'α-lactalbumine comprend 4 ponts disulfures et un site de liaison de l'ion Ca^{2+} chez toutes les espèces. L'existence d'un site secondaire de fixation du Ca^{2+} de plus faible affinité a été montré pour l'α-lactalbumine humaine (Chandra et *al*., 1998). La fixation du calcium joue un rôle important dans la stabilisation de la structure spatiale de la protéine. Toutefois, l'α-lactalbumine peut aussi chélater d'autres cations comme le Mn^{2+}, Cd^{2+}, Cu^{2+}, Na^{2+} et K^{+} . De plus, cette protéine possède un site spécifique pour l'ion Zn^{2+} situé de son côté N-terminal. Les ions qui peuvent s'y fixer sont la Co^{2+} et le Mg^{2+}, la fixation de ce dernier permet de stabiliser la structure de la protéine, par contre la fixation de Zn^{2+} la déstabilise (Noyelle et Van Dael., 2002). Deux variants génétiques A et B ont été détectés dans le lait camelin par électrophorèse et par chromatographie (Conti et *al*., 1985). Trois variants de l'α-lactalbumine (variants A, B et C) ont été identifiés dans le lait de jument (Kaminogawa et *al*., 1984), Il en existe quatre pour l'α-lactalbumine bovine : deux variants A et B qui diffèrent par la substitution en position 10 de la glutamine (variant A) par l'arginine (Bhattacharya et *al*., 1963), un variant C ainsi qu'un quatrième variant découvert récemment (Visker et *al*., 2012). Pellgrini et *al*., 1999 ont identifié trois peptides, libérés suite à l'hydrolyse trypsique ou chymotrypsique de l'α-lactalbumine, possédant une activité antimicrobienne vis-à-vis des souches bactériennes Gram-positive.

L'α-lactalbumine présente plusieurs intérêts thérapeutiques. Svanborg et *al*., 1995 ont pu isoler une forme multimérique appelée MAL (multimeric form of human α-lactalbumin) qui induit l'apoptose des cellules transformées, des cellules embryonnaires et des cellules lymphoïdes. Par contre, les cellules saines et matures ne sont pas touchées par ce phénomène

en présence de MAL. Par ailleurs, l'α-lactalbumine peut interagir avec l'acide oléique pour acquérir une fonction analogue à celle de MAL. Le complexe formé appelé HAMLET « Human α-lactalbumin Made Lethal to Tumor Cells (Duringer et *al*., 2003) permet de traiter le cancer de la vessie (Mok et *al*., 2007).

```
                        10         20         30         40         50         60
Vache             EQLTKCEVFR ELKDLKGYGG VSLPEWVCTT FHTSGYDTQA IVQNNDSTEY GLFQINNKIW
Chèvre            EQLTKCEVFQ KLKDLKDYGG VSLPEWVCTA FHTSGYDTQA IVQNNDSTEY GLFQINNKIW
Brebis            EQLTKCEVFQ ELKDLKDYGG VSLPEWVCTA FHTSGYDTQA IVQNNDSTEY GLFQINNKIW
Buffle            EQLTKCEVFR ELKDLKDYGG VSLPEWVCTA FHTSGYDTQA IVQNNDSTEY GLFQINNKIW
Dromadaire        KQFTKCKLSD ELKDMNGHGG ITLAEWICII FHMSGYDTET VVSNNGNREY GLFQINNKIW

                        70         80         90        100        110        120
Vache             CKDDQNPHSS NICNISCDKF LDDDLTDDIM CVKKILDKVG INYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKL
Chèvre            CKDDQNPHSR NICNISCDKF LDDDLTDDIV CAKKILDKVG INYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKL
Brebis            CKDDQNPHSR NICNISCDKF LDDDLTDDIM CVKKILDKVG INYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKL
Buffle            CKDDQNPHSS NICNISCDKF LDDDLTDDIM CVKKILDKVG INYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKL
Dromadaire        CRDNENLQSR NICDISCDKF LDDDLTDDKM CAKKILDKEG IDYWLAHKPL CSEKLEQWQC EKW
```

Figure 7. Alignement de la séquence de l'α-lactalbumine chez différentes espèces : vache (P00711), chèvre (P00712), brebis (P09462), Buffle (Q9TNS6) et dromadaire (P00710). Les acides aminés conservés entre les espèces sont colorés en rouge. Les acides aminés qui diffèrent chez le dromadaire sont colorés en violet.

1.1.2. La sérum albumine

C'est une protéine très soluble dans l'eau identique à celle trouvée dans le sang. Chez les mammifères, elle est produite par le foie. Elle joue un rôle crucial dans le maintien de la pression sanguine et le transport des minéraux et hormones, ainsi que dans le métabolisme et la distribution des ligands (Carter et Ho., 1994). Figge et *al*., 1991 ont montré que cette protéine est responsable du maintien du pH sanguin. La sérum albumine représente environ 1,5% des protéines totales du lait bovin et à peu près 8% du total des protéines solubles. Elle comporte un groupe thiol et 17 ponts disulfures intrapeptidiques et comporte 583 acides aminés et un poids moléculaire de 66,399 kDa.

Farah (1986) a identifié la Sérum albumine caméline par SDS- PAGE (Dodécyl Sulfate de Sodium) comme étant similaire à son homologue bovine.

1.1.3. La lactophorine

La lactophorine (protéose peptone 3: PP3) est une protéine de la fraction protéoses-peptones (PP) du lactosérum. Cette protéine a été souvent étudiée dans le lait bovin (Paquet., 1989) et caractérisée dans le lait caprin et bovin (Mati et *al*., 1991).

La PP3 est une composante majeure du lactosérum de dromadaire. C'est une protéine dépourvue des résidus cystéine avec une hétérogénéité de la séquence des acides aminés dans la région N-terminale. Elle est structurellement très similaire à son homologue bovin qui est une phosphoglycoprotéine de 135 acides aminés (Sorenson et Petreson., 1993). La composition en acides aminés des protéoses peptones est caractérisée par le taux important de proline et la faible quantité de résidus aromatiques. Cette fraction protéique, se caractérise aussi par une faible concentration en méthionine et l'absence de cystéine (Ng et *al*., 1970). La PP3 se distingue par une teneur élevée en sérine et en glycine et par une faible teneur en proline. Dans les protéoses peptones globales, les prolines sont apportés principalement par la PP5 et PP8 qui sont des protéines phosphorylées en équilibre entre la caséine et le lactosérum (Kolar et Brunner., 1969; 1970). La PP3 présente deux variants génétiques A et B qui ont respectivement 137 et 122 résidus d'acides aminés, avec des poids moléculaires respectifs de 15.442 et 13.661 Da. Tous les deux possèdent cinq résidus phosphorylés. Environ 75% de la PP3 (lactophorine) présente dans le lait camelin est de type A et le reste est de type B (Kappeler et *al*., 1999 (a)).

La séquence nucléotidique du gène codant pour la lactophorine présente une grande similarité avec celles des gènes codant pour la Glycam-1 (glycosylation-dependant cell adhesion molecule) de la souris et du rat (Johsen et *al*., 1995).

La lactophorine cameline semble présenter un très faible potentiel d'O-glycosylation ainsi que deux ou trois sites potentiels de phosphorylation sur des résidus sérine (Kappeler et *al*., 1999 (a)). La PP3 se trouvait au niveau du lait camelin à une teneur nettement plus élevée que celle rencontrée pour la PP3 bovine (1,1 contre 0,3 g/l respectivement) (Kappeler et *al*., 1999 (a) et Girardet et *al*., 2000).

De nombreuses propriétés ont été décrites pour la PP3 ou la fraction hydrophobe qui la contient (Girardet et Linden., 1995), dont notamment son aptitude à inhiber la lipolyse spontanée du lait sous l'action de la lipoprotéine lipase (LPL) (Cartier *et al*, 1990), la stimulation de l'activité mitogénique des cellules d'hybridomes (Mati *et al*, 1993), la croissance de souches de bifidobactéries (Etienne *et al.*, 1994), ainsi que son rôle dans le maintien de la structure des émulsions de la matière grasse du lait (Shimizu et *al*., 1989,).

Les travaux de Brenos et *al*., 1997 ont montré la présence de deux sites de liaison du fer (Fe^{3+}) dans le domaine phosphorylé dans la région N-terminale. Ce domaine a un rôle dans la fixation des ions calcium avec les résidus phosphosérine (Sorensen et Petersen., 1993).

1.1.4. Les immunoglobulines

Les immunoglobulines (Ig) sont des protéines solubles jouant un rôle essentiel dans l'organisme contre les agressions. Les IgG sont les plus abondantes (75 à 80 % des anticorps circulants). Elles sont fabriquées lors d'un contact avec un antigène. Elles protègent l'organisme contre les bactéries, les virus et les toxines qui circulent dans le sang et la lymphe. D'autre part, elles fixent rapidement le complément. Elles participent également à la réponse immunitaire mémoire, base de l'immunité sur laquelle repose le mécanisme de la vaccination. Enfin, les immunoglobulines G traversent le placenta et, de ce fait, entraînent une immunité passive chez le foetus.

Les Ig A se trouvent essentiellement dans les sécrétions comme la salive, le suc intestinal, la sueur et le lait maternel. Elles empêchent les agents pathogènes de se lier à la cellule et plus spécifiquement aux cellules de recouvrement constituant les muqueuses et l'épiderme.

Les IgM sont des immunoglobulines sécrétées lors du premier contact de l'organisme avec un antigène. C'est la première classe d'immunoglobulines libérée par une variété de globules blancs : les plasmocytes. La présence d'IgM dans le sang indique une infection en cours.

Les IgD sont une variété d'immunoglobulines le plus souvent attachées à la surface des lymphocytes B, où elles jouent un rôle de récepteurs des antigènes. Elles interviendraient dans la maturation des lymphocytes.

Le taux des immunoglobulines est très élevé dans le colostrum chez tous les mammifères. Cependant, la concentration des immunoglobulines dans le lait varie selon les espèces. Trois classes fonctionnelles d'IgG sont définies chez le dromadaire : IgG1 composé de 2 chaînes légères identiques et de 2 chaînes lourdes comme celles des autres mammifères. Toutefois, deux sous-classes d'IgG (IgG2 et IgG3) dépourvues de chaînes légères (Figure 8 b) ont été mises en évidence (Hamers-Casterman et *al*., 1993). Ces IgG2 et IgG3 représentent environ 75% des IgG sériques et se trouvent également dans le lait.

L'organisation des chaînes lourdes des anticorps du dromadaire diffère complètement de ce qui est connu chez les autres vertébrés (Atarhouch et *al*., 1997). Du point de vue

structural, les IgG du dromadaire sont plus proches des immunoglobulines humaines que de celles des autres ruminants.

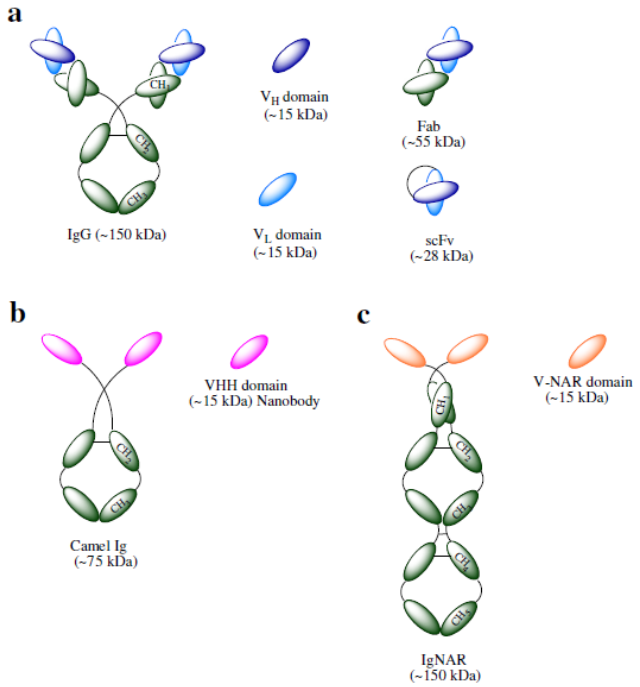

Figure 8. Représentation schématique des différentes variétés et fragments d'anticorps (Deffar et *al*., 2009).

a: Anticorps conventionel contenant deux régions variables (chaque région est composée d'une région variable lourde V_H « heavy variable » et une autre légère, V_L « Heavy light ») qui confère la spécificité liaison antigène-anticorps et un fragment Fc dans la région constante qui intervient dans l'activation du système du complément.

b : HcAb (heavy chain antibody) camelin est une structure spéciale contenant une paire homodimérique de deux chaines de V-like domain (dépourvues de chaînes légères), le fragment VH a une activité anticorps.

c : L'immunoglobuline NAR « variable region of new or nurse shark antigen receptor » contient un homodimère d'un domaine variable (V-NAR) et cinq domaines constants (C-NAR).

Les immunoglobulines du lait de dromadaire ont un faible effet antibactérien et sont surtout des anti-rotavirus (Elagamy et *al*., 1992). Levieux et *al*., 2006 ont observé que la température moyenne de dénaturation thermique (50% de dénaturation) pour le lait mature chauffé pendant 30 minutes est de 67,2°C pour les IgG. Pour le premier lait (Le colostrum), elle est de 64,8°C. Ainsi, plus le lait est riche en IgG, moins il est thermorésistant.

Chez le lama, il existe six types d'IgG : IgG1 ($IgG1_a$ et $IgG1_b$), IgG2 ($IgG2_a$, $IgG2_b$ et $IgG2_c$) et IgG3. Les IgG3 sont les anticorps les plus abondants dans le sérum de cette espèce (De Simone et *al*., 2008).

1.1.5. La lactoperoxydase

La lactoperoxydase est une enzyme qui appartient aux systèmes non-immuns normaux de défense du lait et des sécrétions des glandes à sécrétion externe comme les larmes, la salive, la thyroïde, les sécrétions intestinales et le mucus cervical. Elle joue un rôle important au niveau du système immunitaire non spécifique en exerçant une activité bactéricide, principalement sur les bactéries gram négatif. La lactoperoxydase du lait a pour rôle principal de protéger la mamelle contre les infections.

La lactoperoxydase humaine n'est présente que dans le colostrum et devient non détectable après une semaine après la mise bas, par contre celle chez le bovin reste à un niveau élevée durant toute la lactation. D'après Dull et *al*., 1990, la lactoperoxydase du lait bovin existe sous forme hétérogène avec deux formes majeures de 76,5 et 78,5 kDa respectivement.

La lactoperoxydase du dromadaire est une protéine monomérique qui présente une grande similarité au niveau de la séquence d'acides aminés (94,9%) avec son homolgue bovin. La séquence de cette protéine chez le lait camelin est formée de 611 acides aminés. Elle est considérée comme plus thermorésistante que celle isolée à partir du lait de vache.

La lactoperoxydase du lait de dromadaire présente une stabilité encore plus forte vis-à-vis des traitements thermiques (Elagamy et *al*, 1996).

1.1.6. La whey Basic Protein

La protéine basique de sérum de dromadaire ou CWBP (Camel Whey Basic Protein) a été isolée pour la première fois par Ochirkhuyag et *al*., 1998. Ces auteurs ont déterminé la séquence N-terminale de cette protéine qui ne semble pas présenter d'homologie avec une quelconque protéine laitière et non laitière. La comparaison des séquences connues des protéines du lait de dromadaire et de lama n'a montré aucune analogie avec les autres protéines du lait (Ochirkhuyag et *al*., 1998).

1.1.7. La lactoferrine

La lactoferrine est une protéine basique du système immunitaire appartenant à la famille des transferrines dont la fonction principale est la fixation des cations de fer (préférentiellement le Fe^{3+}).

Kappeler et *al*. (1998) ont montré que le point isoéléctrique du peptide non modifié de la lactoferrine est de 8,14 et que la séquence de cette protéine chez le dromadaire présente 91,6% d'homologie avec celles de la vache et de la femme et 91,3% avec la lactoferrine porcine. La structure primaire de la lactoferrine du lait de dromadaire est composée de 689 acides aminés et sa masse moléculaire est de 75,250 kDa.

Le lait de dromadaire est très riche en lactoferrine surtout durant la phase colostrale par rapport à celui du bovin (Kappeler., 1998). Un homologue à la lactoferrine bovine a également été isolé et identifié dans le lait de dromadaire (Duhaiman., 1988 ; EL-Agamy et *al*, 1992 et 1996 ; Kappeler et *al*, 1999 (b)).

Par rapport aux autres transférrines, la lactoférine possède une grande affinité pour le fer, cette affinité lui permet d'épuiser le fer libre ralentissant ainsi la croissance bactérienne dans l'intestin, d'où son effet bactériostatique (Kappeler., 1998). Cette protéine possède une action inhibitrice de la croissance de *Salmonella thyphimurium* (EL-agamy et *al.*, 1992) ainsi qu'une stabilité à des pH bas et vis-à-vis des traitements thermiques (Kappeler *et al*, 1998 et EL-Agamy., 2000). L'activité antibactérienne exercée par la lactoferrine caméline sur *E. coli* est importante à faible concentration (Conesa et *al*., 2008).

Une grande concentration de cette protéine peut prévenir la peroxydation lipidique par les radicaux libres durant l'infection de la mamelle. Adlerova et *al*., 2008 ont montré que cette protéine possède une activité antivirale et antiparasitaire ainsi qu'un rôle important dans la prolifération et la différenciation cellulaire. Les propriétés antivirales de la lactoferrine cameline étudiées par El-Rashdy et Tabll, 2007 et El Fakhrany et *al*., 2008 s'expliquent par le blocage de l'invasion des cellules par les virus, particulièrement le virus de l'hépatite (Pan et *al*., 2006). La lactoferrine est utilisée aussi comme conservateur dans les aliments, les médicaments et les produits cosmétiques.

1.1.8. La peptidoglycan recognition protein (PGRP)

C'est une famille de protéines décrites récemment (protéines de reconnaissance du peptidoglycanne) (Kappeler., 1998). Ces molécules sont une composante du système immunitaire inné possédant une fonction antibactérienne (Kappeler et *al*., 2003). Elles sont

impliquées dans le système immunitaire primaire des vertébrés et des invertébrés. Elles sont produites dans les cellules épithéliales et les sécrétions corporelles (Lu et *al*., 2006). La PGRP agit en synergie avec les enzymes bactériolytiques et les peptides antimicrobiens (Cho et *al*., 2005, Lu et *al*., 2006). L'inactivation des pathogènes est effectuée à travers la fixation au peptidoglycane de la membrane bactérienne, d'où le nom de « Peptidoglycan Recognition Protein : PGRP » (Kappeler et *al*., 2004).

La PGRP a été isolée à partir du lait de dromadaire par précipitation acide suivie d'une chromatographie (Héparine-sépharose) et à partir d'une banque d'ADNc de la glande mammaire (Kappeler et *al*., 2004). La protéine mature a un poids moléculaire de 19,143 kDa avec 172 acides aminés.

Le taux de la PGRP décroit durant la lactation et augmente en cas d'infection de la glande mammaire chez le dromadaire (Kappeler et *al*., 2004). Le taux élevé de cette protéine au début de lactation indique un possible rôle dans la protection de la glande mammaire (Kappeler et *al*., 2004).

1.1.9. Whey Acidic Protein (WAP)

C'est une protéine à caractère acide, dénommée d'ailleurs WAP (Kappeler, 1998). Il s'agit d'une protéine abondante dans le lait de certaines espèces de mammifères, notamment les rongeurs et les lagomorphes (Dandekar et *al*., 1982). Elle a été rapportée dans le lait de dromadaire (Beg et *al*., 1986) et de truie (Simpson et *al*., 1998). Elle est absente du lait des autres ruminants et de celui de la femme chez la quelle le gène codant pour la WAP existe, mais il ne s'exprime pas en raison de mutations critiques : mutation dans le codon d'initiation de la traduction, délétion d'un nucléotide dans un site d'épissage, présence d'un codon stop prématuré dans l'exon 3 et présence d'un T additionnel dans le site de polyadénylation (Nukumi et *al*., 2007).

La WAP est synthétisée dans la glande mammaire. Grabowski et *al*., 1991 et Nukumi et *al*., 2007 ont montré que cette protéine est présente dans le sang des lapines et des souris en lactation. Cette dernière donnée suggère que la WAP est sécrétée dans la matrice extracellulaire et libérée dans la circulation sanguine quand le lait s'accumule dans la lumière alvéolaire (Nukumi et *al*., 2007).

Le taux de la WAP dans le lait de dromadaire est estimé à 157 mg/l (Kappeler et *al*, 1998). La protéine mature comporte 191 acides aminés, comprenant trois domaines avec quatre ponts disulfures.

Chez les souris transgéniques, la surexpression de la WAP inhibe la prolifération et favorise la différenciation des cellules épithéliales mammaires (Nukumi et *al*., 2007; Burdon et *al*., 1991). Cette protéine empêcherait la dégradation de la matrice extracellulaire et l'invalidation de son gène n'affecte pas la morphologie et la différenciation des cellules épithéliales mammaires mais provoque plutôt un retard de croissance, suivi de la mort des petits 15 jours après leur naissance. Cette mortalité peut être due à une baisse considérable de la quantité de lait produite par les mères (Triplette et *al*., 2005). La WAP serait indispensable pour le maintien de la stabilité de la sécrétion des protéines du lait (Triplette et *al*., 2005).

1.1.10. Le lysozyme

Le lysozyme est une protéine naturellement présente dans le lait de mammifères. Elle comporte 129 acides aminés et elle a un poids moléculaire de 14 kDa. C'est une enzyme bactériolytique qui clive la liaison glycosidique β (1-4) du peptidoglycane de la paroi des cellules bactériennes engendrant ainsi leur lyse (Benkerroum., 2008), elle est chargée positivement ayant un pH basique (10,5-11) et elle se lie en conséquence électrostatiquement sur les surfaces anioniques des bactéries.

Plusieurs microorganismes sont sensibles au lysozyme telles que les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, les levures *Candida krusei*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, et le virus Herpès simplex.

Les bactéries gram-négatif sont plus résistantes au lysozyme car elles contiennent une membrane externe de lipopolysaccharide, qui peut les protéger contre l'action du lysozyme.

Le lysozyme a été mis en évidence chez le lait de dromadaire avec des faibles concentrations (El agamy et *al*., 1992; 2000). Son activité enzymatique est plus forte chez le dromadaire que chez la vache mais plus faible que celle de l'œuf (El-Agamy., 1996). Elle est thermorésistante à 85°C pendant 10 minutes.

1.1.11. La β-Lactoglobuline

La β-lactoglobuline appartient à la famille des lipocalines (Kontopidis et *al*., 2002) et au niveau structure elle présente une homologie avec la protéine plasmatique transporteuse du rétinol (RBP : retinol binding protein). Elle joue un rôle important dans le transport des molécules hydrophobes et des métaux.

La β-lactoglobuline est la protéine majeure du lactosérum chez les ruminants (2 à 4 g/l chez la vache), mais elle est absente chez la femme (Brignon et *al*., 1985) et les rongeurs (Green et Pastewka., 1976). Sa présence dans le lait camelin est controversée, Farah et *al*.,

1986, El-Agamy., 2000 et Aloui Lombarkia et *al*., 2007 ont signalé sa présence en faible quantité. Kappeler et *al*., 2003 ont signalé son absence dans le lait camelin puisqu'ils n'ont pas trouvé son ARN messager dans la glande mammaire du dromadaire.

1.2. Les caséines

Les caséines sont définies comme des phosphoprotéines précipitant à 20°C et à pH 4,6 pour le lait bovin (Thompson et *al*., 1965), à pH 4,2 pour le lait équin (Egito et *al*., 2001) et à pH 4,3 pour le lait camelin (Wangoh et *al*.,1998). Chez les ruminants, elles sont les protéines majeures. En fait, elles représentent environ 80% des protéines totales du lait bovin et 40% de celles de la femme. Elles représentent la fraction protéique la plus abondante dans le lait camelin à savoir 73 à 81% des protéines totales (Mehaia et *al*., 1995). Leur composition en acides aminés est caractérisée par un faible taux en glycine et en cystéine et cette composition est identique à celle de leurs homologues bovins (Farah et Ruegg., 1989, Ochirkhuyag *et al*., 1997 et Kappeler et *al*., 1998).

Les caséines se retrouvent à l'état de suspension colloïdale et sont synthétisées par l'épithélium sécrétoire mammaire sous forme de précurseurs contenant un peptide signal qui permet l'adressage et qui sera clivé au cours du passage de ces protéines à travers la membrane du réticulum endoplasmique (Gaye et *al*., 1977, Mercier et Gaye., 1980)

Les caséines ne sont pas des entités moléculaires indépendantes et uniques. Dans le lait, elles sont organisées sous la forme de particules sphériques ou micelles et s'associent à un complexe minéral de phosphate de calcium de taille variable et fortement hydraté et minéralisé.

Les caséines sont au nombre de quatre chez les ruminants: caséine αs1, caséine αs2, caséine β et caséine κ. Les trois premières sont des protéines multiphosphorylées et connues sous le nom de caséines sensibles au calcium (calcium sensitive casein) en raison de leur précipitation à la concentration calcique normale du lait (30 mM). La caséine κ qui peut être glycosylée demeure en solution dans ces conditions. Chez les rongeurs on distingue cinq caséines : α, β, κ, ε et γ. Les caséines β et α s1 sont transcrites de façon convergente chez les ruminants, par contre chez la souris, la caséine ε est transcrite dans le même sens que la caséine β. Les caséines αs1, β et κ peuvent jouer un rôle de protéines chaperonnes (Morgan et *al*., 2005).

Le tableau 4 montre les teneurs en principales caséines du lait de différentes espèces.

Les caséines contiennent des peptides bioactifs qui sont libérés suite à des protéolyses *in vitro* et *in vivo* sous l'action des enzymes endogènes et exogènes ou même pendant les

fermentations lactiques. Ces peptides bioactifs peuvent agir à plusieurs niveaux de l'organisme (effet anti-diarrhéique, anti-carcinogènes, anti-thrombotiques, anti-infectieuses etc…).

Les analyses des séquences des caséines au niveau de la protéine, de l'ARNm et de l'ADN sont rares (Beg et *al*., 1985 et Kappeler et *al*., 1998). Les séquences des ARN messagers codant pour les caséines camélines ont été déterminées par Kappeler et *al*., 1998 (GenBank ID : AJ012628 à AJ012630, Y10082).

Tableau 4. Concentration moyenne en différentes caséines du lait de différentes espèces (mg/l) (Kappeler et *al*., 2003)

Protéine	Chamelle	Vache	Femme	Fonction principale
α_{s1}-Casein	5000	1200	Trace	Nutritive (acides aminés, Ca, P)
α_{s2}-Casein	2200	3000	Trace	Nutritive (acides aminés, Ca, P)
β-Casein	15000	10000	4670	Nutritive (acides aminés, Ca, P)
κ-Casein	800	3500	Trace	Coagulation de la micelle de caséines

1.2.1. La caséine αs1

C'est la protéine la plus abondante du lait. Elle représente plus de 40% des caséines totales chez la vache. Celle du lait de dromadaire représente 22% des caséines totales. La caséine αs1 du lait de dromadaire contient 215 acides aminés et a une masse moléculaire de 25.773 Da et un point isoélectrique de pH 4,4 (Kappeler et *al*., 1998).

En fonction de la nature des acides aminés, plusieurs zones au niveau de cette molécule peuvent être caractérisées. Une zone N-terminale des acides aminés 1 à 41 qui présente un fort caractère hydrophobe. Une zone hydrophile est définie entre les acides aminés 41 à 80. La caséine αs1contient six sites potentiels de phosphorylation sur des résidus de sérine.

L'alignement de la séquence des ARNm de 11 espèces a montré une grande homologie entre le dromadaire et le porc par rapport aux autres espèces comme la chèvre et la brebis (Martin et *al*., 2003).

Deux variants d'épissage de la caséine αs1 chez le dromadaire ont été décrits par Kappeler et *al*., 1998. Le variant A (variant naturel) est formé de 215 résidus d'acides aminés. Le variant B est caractérisé par la délétion de huit résidus d'acides aminés (EQAYFHLE) correspondant à l'exon 16 du gène camelin.

Des études récentes de Shuiep et *al*., 2013 ont pu mettre en évidence un nouveau variant la caséine αs1 C qui se caractérise par rapport à la caséine αs1 A par l'absence de l'exon 16 au niveau de l'ARN messager ainsi que par une substitution au niveau de la séquence nucléotidique de l'exon 5 entrainant une substitution d'un acide aminé (Gln30 > Asp30) « GenBank ID : JF429138 ».

1.2.2. La caséine αs2

Elle représente entre 12 et 16 % des caséines. La structure primaire présente 207 résidus d'acides aminés (Grosclaude et *al*., 1979). Comme dans le cas de la caséine αs1, on peut distinguer plusieurs zones au niveau de la séquence primaire. La séquence N-terminale allant des acides aminés 1 à 75 possède un caractère hydrophile marqué par la présence de huit résidus de sérine phosphorylés, une autre zone hydrophile est localisée entre les acides aminés 121 à 165 où se trouvent trois résidus de phospho-sérine. La caséine αs2 est la plus hydrophile des caséines et elle est très sensible à l'action des ions calcium. Elle précipite en présence d'une teneur en calcium voisine de 6 mM et à une température supérieure à 20°C.

Cette protéine existe dans le lait en partie sous forme de dimères (Ramussen et *al*., 1992). Sa structure secondaire comporte 20 à 32 % d'hélice α (Haga et *al*., 1983), environ 30% de feuillets β (Hoagland et *al*., 2001). Cette caséine présente une délétion au niveau de sa structure primaire. Cette délétion aurait une implication dans l'assemblage de la micelle, dans sa stabilité et dans ses propriétés nutritionnelles (Ferranti et *al*., 1995).

La caséine αs2 du lait de dromadaire renferme 178 acides aminés, et elle a une masse moléculaire de 21.266 Da et un pI de 4,58.

1.2.3. La caséine β

La caséine β représente entre 37 et 42% des caséines du lait. La forme bovine contient 209 résidus d'acides aminés dont 5 résidus de sérine sont phosphorylés et elle a un poids moléculaire de 23.998 Da (Grosclaude et *al*., 1973, Ribadeau-Dumas et *al*., 1972). La caséine β ne présente pas de résidu de cystéine. Comme pour les autres caséines, il est possible de distinguer deux zones où le domaine N-terminal possède un caractère hydrophile : des acides aminés 1 à 56 et une zone hydrophobe qui concerne le reste de la molécule. Dans la partie

hydrophile on note la présence de cinq résidus de sérine phosphorylés, dans la partie apolaire il y a 33 résidus de proline répartis d'une façon uniforme. La caséine β peut subir l'action des protéases comme la plasmine entraînant ainsi la formation de la caséine γ. Cette dernière représente 3 et 5% des caséines du lait.

Dans le lait camelin, la caséine β comporte 217 acides aminés et fait 24.651 Da. Elle a un pI de 4,76 et possède quatre sites de phosphorylations au niveau des résidus de sérine 15, 17,18 et 19 (Kappeler et *al*., 1998).

1.2.4. La caséine κ

La caséine κ n'est pas majoritaire dans la micelle (Ribadeau-Dumas et Grappin, 1989), elle représente 8 à 15% des caséines soit 3 à 4 g/litre de lait de vache. Elle ne précipite pas en présence de calcium (sauf à une concentration supérieure à 30 mM) et permet donc de stabiliser la structure de la micelle. Cette caséine est bien étudiée puisqu'elle détient le rôle clé au niveau de la coagulation du lait par la présure (Cayot et Lorient, 1998). Elle possède 169 résidus d'acides aminés et elle a une masse moléculaire d'environ 19 kDa. Elle est de nature amphipolaire, la partie N-terminale est hydrophobe, la partie C-terminal est hydrophile.

La caséine κ est très susceptible à l'action de la chymosine qui scinde la molécule en deux fragments : la para caséine κ et la caséino-macropeptide qui joue un rôle important dans la coagulation du lait (Mercier et *al*., 1976).

La caséine κ du lait de dromadaire est composée de 162 acides aminés et présente une masse de 18.254 Da, un pI de 4,11 et deux sites de phosphorylation au niveau des résidus de sérine 141 et 159. Elle permet la croissance des submicelles et ainsi la taille de la micelle (Kappeler et *al.* 1998).

1.2.5. La micelle de caséine

Chez toutes les espèces, les caséines se présentent sous forme de micelles avec une structure similaire. Les micelles de caséines se présentent sous forme de complexes moléculaires constitués de protéines, de citrate, de phosphate, de calcium, de magnésium, de potassium et de sodium. La micelle de caséine est constituée de 10 à 100 submicelles reliées entre elles par l'intermédiaire de pont phospho-calcique (Figure 9). Les résidus phosphosérine et les groupements acides des acides aminés participent à l'interaction des submicelles avec le calcium.

Grâces à ces micelles, les caséines maintiennent l'excès de phosphate de calcium dans un état de suspension colloïdale stable ainsi qu'une sécrétion de lait riche en phosphate de

calcium soluble qui a un rôle physiologique et nutritionnel important. Chez plusieurs espèces, la coagulation des micelles par l'enzyme coagulante (la chymosine) retarde l'entrée des constituants du lait dans l'intestin grêle favorisant ainsi leur digestibilité (Fox et Brodkorb, 2008).

De rares travaux ont été faits sur l'organisation structurale de la micelle de caséine chez le dromadaire. Gouda et *al*., 1984 ont rapporté la large distribution de la taille des micelles (25 à 40 nm). Plus récemment (Kherouatou., 2004), il a été mis en évidence que la micelle du lait de dromadaire est différente de son homologue bovin au niveau du diamètre micellaire, de la distribution de taille, du niveau de minéralisation, de la viscosité, du taux de caséines et de la teneur en caséines solubles.

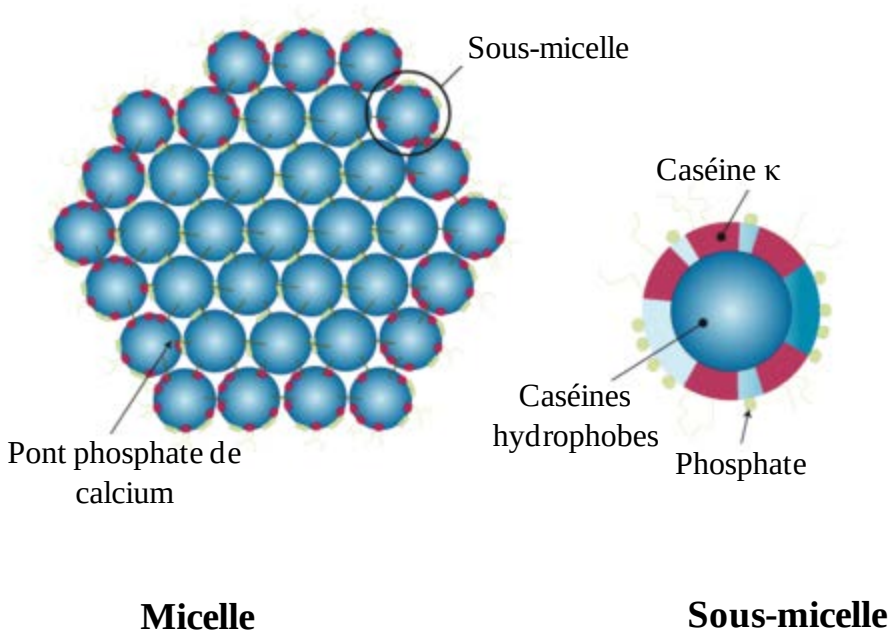

Figure 9. Représentation schématique de la micelle de caséine (Ruettinam et Ladisch, 1987)

1.2.6. Modifications post-traductionnelles des caséines

Au cours de leur synthèse, les caséines et avant de leur sécrétion au niveau de la cellule épithéliale mammaire, les caséines subissent des modifications post-traductionnelles (phosphorylation et glycosylation).

Il existe deux types de glycosylation, la N-glycosylation (la plus fréquente) et la O-glycosylation. Seule la caséine κ est glycosylée. La O-glycosylation de cette caséine, se déroule dans l'appareil de golgi. La caséine κ serait principalement localisée à la surface de la

micelle, accessible à l'enzyme coagulante. Les caséines κ les plus phosphorylées engageraient des liaisons phosphocalciques avec les autres caséines orientées vers l'intérieur de la micelle, alors que les caséines κ O-glycosylées (les moins phosphorylées) seraient exposées au solvant et formeraient une chevelure dont l'épaisseur varierait selon les conditions du milieu (Holt, 1992 et Tchorbanov et Liev, 1993).

A part la glycosylation, il ya un autre type de modification post-traductionnelle qui est la phosphorylation. Ce processus se déroule dans l'appareil de golgi (Bingham et *al*., 1972). La synthèse des caséines se fait tout d'abord au niveau des polyribosomes du réticulum endoplasmique des cellules épithéliales mammaires (Beitz et *al*., 1969). Le clivage du peptide signal permet l'adressage des caséines vers la face cis de l'appareil de Golgi où elles vont être phosphorylées, permettant la liaison aux ions Ca^{2+}. Les caséines vont être ensuite secrétées dans des vésicules golgiennes où se formeront les micelles (Carroll et *al*., 1970).

2. La matière grasse : les globules gras

La matière grasse du lait se présente sous forme d'une émulsion de globules gras stabilisés en phase aqueuse. Ces globules sphériques présentent des diamètres variant de 1 à 5 µm (Farah, 1996). Le diamètre de ces globules gras chez le lait bovin varie de 0,1 à 15 µm (Goudédramche et *al*., 2000).

La matière grasse cameline représente 2,7 à 3,6 % de la composition globale (Farah., 1996 Karray et *al*., 2005).

2.1. Origine et formation des globules gras

La matière grasse laitière trouve son origine dans la cellule épithéliale mammaire. En effet, le réticulum endoplasmique (RE) est l'endroit où sont synthétisées à la fois les protéines et les triglycérides. Ces triglycérides sont ensuite accumulés sous forme de microgouttelettes lipidiques cytoplasmiques ou CLDs « cytoplasmic lipid droplets » ayant des diamètres de 1 à 5 µm qui à la sortie des réticulums ne dépassent pas 0,5 µm (Heid et Kennan., 2005). Ces gouttelettes lipidiques sont les précurseurs des globules gras du lait.

2.2. Mécanismes de transit et de sécrétion des globules gras

Lors du mécanisme de sécrétion des globules gras (Figure 10), les CLDs migrent à travers le cytoplasme de la cellule sécrétrice, s'accumulent au bord apical des acini mammaires, se couvrent graduellement de la membrane plasmique jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un fin col non refermé (Danthine et *al.*, 2000). La sécrétion proprement dite a lieu quand

les parties membranaires fusionnent entre elles au niveau du col. Au point de pincement, la gouttelette lipidique est expulsée dans le lumen alvéolaire. Le phénomène de sécrétion serait facilité par une glycoprotéine : la butyrophiline qui a tendance à s'associer à une protéine, la xanthine oxydase pour former un complexe qui pourrait être impliqué dans la liaison de la bicouche membranaire à la gouttelette lipidique.

Des études récentes ont montré qu'il ya plusieurs autres modèles de sécrétion des globules gras. Il a été suggéré que la biosynthèse des gouttelettes lipidiques a lieu au niveau du RE et que l'adipophiline transfère les lipides de RE vers la surface des gouttelettes lipidiques (Robenek *et al*., 2006). Dans des études plus avancées, les mêmes auteurs ont proposé que le bourgeonnement des CLDs à partir de la cellule épithéliale mammaire ainsi que leur libération sous forme de globules gras dans le lait sont sous le contrôle uniquement de la butyrophiline par des interactions homotypiques (Robenek *et al*., 2009).

Les gouttelettes lipidiques n'interagissent pas homotypiquement mais aussi avec d'autres organites de la cellule épithéliale mammaire, tels que les peroxysomes ou les mitochondries.

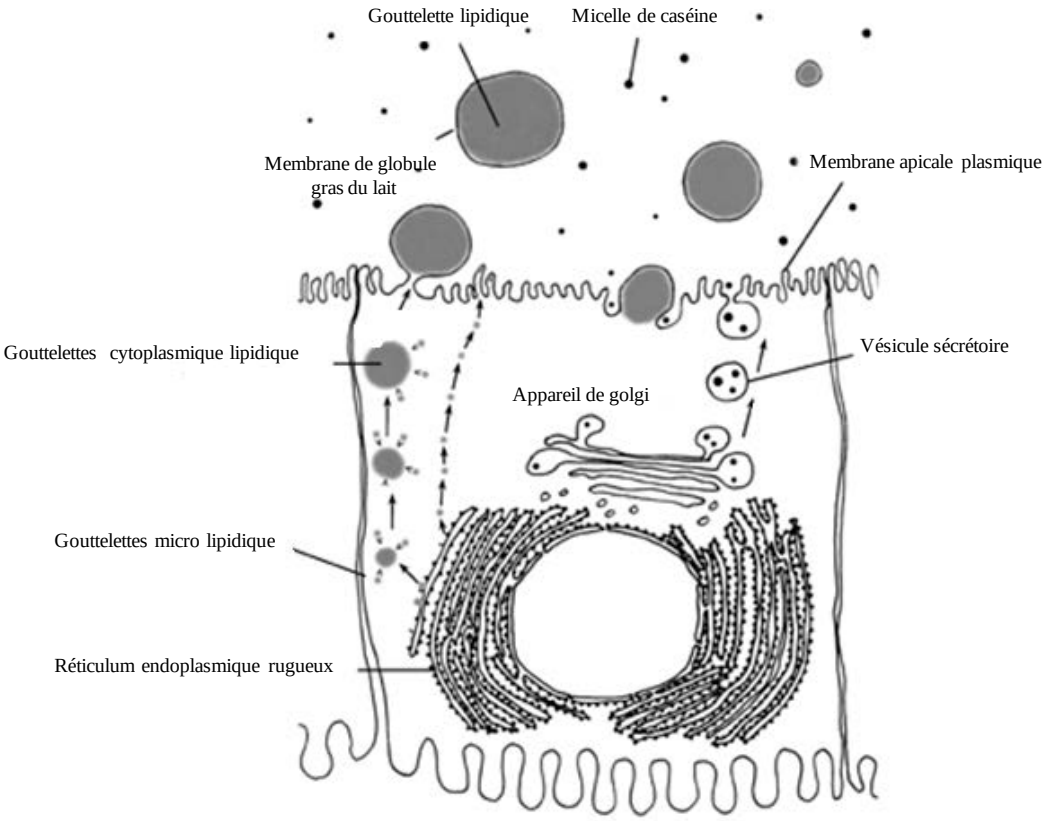

Figure 10. Résumé des voies de transit et de sécrétion de la gouttelette lipidique des cellules épithéliales mammaires (Mather et Keenan, 1998)

2.3. Composition de la membrane du globule gras

La membrane des globules gras apparaît comme une structure multicouche complexe consistant en une couche interne des protéines et des lipides originaires des CLDs et une bicouche externe dérivée de la membrane apicale de la cellule sécrétrice. C'est une enveloppe protectrice particulièrement complexe en termes de composition et de structure. La figure 11 montre l'assemblage des complexes phospholipoprotéines au niveau de la membrane du globule gras.

La membrane des globules gras est constituée de protéines, de lipides, d'enzymes, de glycoprotéines et d'autres composés mineurs (Danthine et *al*., 2000). La composition de la membrane du globule gras dépend de nombreux facteurs comme le régime alimentaire, la santé de la mamelle et le stade de lactation.

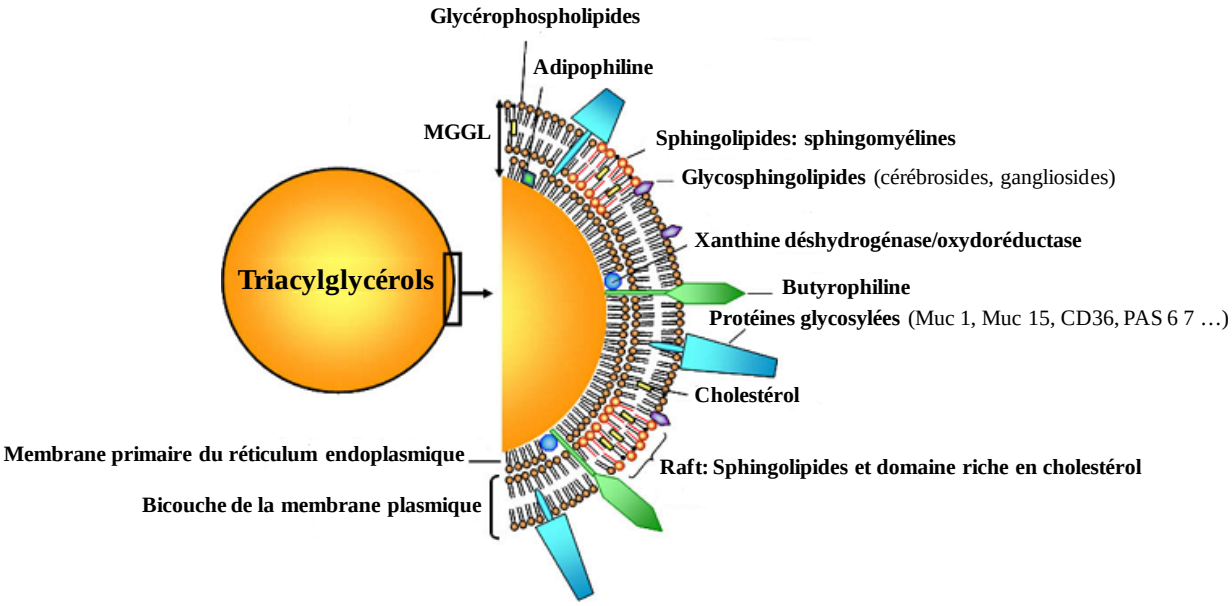

Figure 11. Schéma représentatif de la structure de la membrane du globule gras (Lopez et *al*., 2010)

2.3.1. Les lipides membranaires

Les lipides membranaires représentent 1 à 2% des lipides totaux. Les triglycérides constituent les principaux lipides neutres (62%) des lipides totaux (Singh., 2006). Les lipides neutres mineurs sont des diglycérides (2,1%), des esters (0,1-0,8%) et des cholestérols (0,2-6,1%) (en pourcentage des lipides totaux de la membrane) (Danthine et *al*., 2000, Vanderghem et *al*., 2010). Des faibles quantités de monoglycérides (0,4% des lipides totaux) ont été trouvées dans des échantillons de la membrane du globule gras du lait (tableau 5).

15 à 34 % des lipides totaux de la membrane sont des lipides polaires comme les phospholipides et les sphingolipides dans la membrane du globule gras du lait (Danthine et *al*., 2000). Parmi les phospholipides, il y a les phosphatidylcholines et les phosphatidylserines qui existent sous la forme zwitterion, quelques lipides polaires comme le phosphatidyl inositol et la phosphatidylserine existent sous forme anionique (Dewettinck et *al*., 2008). Les travaux de Fauquant et *al*., 2007 ont montré, en utilisant la technique de GC/MS, que la membrane du globule gras du lait contient quelques traces de stérols comme le demosterol et le lathosterol.

Tableau 5. Les composants lipidiques de la membrane de globule gras (Keenan et Dylewski, 1995, Singh., 2006, Fong et *al*., 2007 et Lopez et *al*., 2010)

Composants	**Lipides totaux (%)**
Triglycérides	62
Diglycérides	2,1
Monoglycérides	0,4
Stérols	0,2-2
Acides gras libres	0,6-6
Phospholipides*	26-31
Sphingomyéline	25
Phosphatidylcholine	36
Phosphatidylethanolamine	30
Phosphatidylinositol	11
Phosphatidylserine	4
Glucosyl-ceramide et lactosyl-céramide	6
lysophosphatidyl choline	2

* les pourcentages des sous classes des phospholipides sont mentionnés par rapport au pourcentage total des phospholipides.

Gorban et Izzedine, 1999 ont montré que la membrane du globule gras du lait camelin est beaucoup plus riche en cholestérol que celle du bovin.

La teneur en cholesterol est de (37,1 mg/100g) chez le lait de chamelle de Kazakhstan (Chilliard., 1989).

2.3.2. Les protéines de la membrane de globules gras

Les protéines de la membrane de globule gras représentent 1 à 2 % des protéines totales du lait (Riccio., 2004). Toutefois, ces protéines membranaires jouent un rôle majeur dans le maintien de l'intégrité de la membrane de globule gras (Mc Pherson et kitchen., 1983). Elles possèdent des propriétés nutritionnelles et technologiques très intéressantes (Deweltinck et *al*., 2008).

Reinhard et Lippolis., 2006 ont identifié par chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse en tandem (LC – MS/MS), plus de 120 protéines dans la membrane du globule gras bovin.

Les protéines majeures de la membrane de globule gras représentent 20 à 60 % du matériel membranaire (Goudedranche et *al*., 2000). La majorité de ces protéines sont glycosylées.

Les protéines majeures de la membrane de globule gras sont la mucine 1 (MUC1), la mucine 15 (MUC15), la xanthine oxydoréductase (XOH /XO), la Fatty Acid Synthase (FAS), la butyrophiline (BTN), la lactadhérine (LDH ou MFG-E8 ou PAS 6 /7) et l'adipophiline (ADPH, connue aussi sous le nom d'ADRP ou « Adipocyte Differentiation-Related Protein »

2.3.2.1. La Mucine (MUC-1)

Ce sont des protéines de très haut poids moléculaire et fortement glycosylées.

La forme bovine de MUC-1 est une protéine transmembranaire possédant un domaine cytoplasmique de 70 acides aminés et un domaine extracellulaire très important, constituée de 30 à 100 unités de séquences répétées en tandem d'une longueur de 20 acides aminés. Cette protéine est incorporée dans la matière grasse lors du bourgeonnement et de l'expulsion du globule gras. Elle se comporte comme une molécule soluble qui peut se séparer ou se déplacer facilement du moins en partie de la membrane (Mather, 2000). Les domaines de fixation des O-glycanes sont très riches en résidus sérine, thréonine et proline. Cette glycoprotéine est exprimée au pôle apical de nombreuses cellules épithéliales. Elle est impliquée dans les mécanismes d'immunoprotection au cours de l'allaitement (Patton et Mullier, 1992). Sa partie intracellulaire participe aussi à la transduction de signaux grâce à ses interactions avec plusieurs protéines cellulaires.

2.3.2.2. MUC-15

C'est la protéine la moins caractérisée des protéines associées à la membrane du globule gras du lait, appelée aussi PAS III. Cette molécule a été isolée et caractérisée dans le lait de vache par Pallesen et *al*., 2002.

MUC-15 comprend 307 acides aminés, ayant un domaine extracellulaire composé de 209 acides aminés, un segment d'ancrage membranaire de 22 acide aminés et un court domaine cytoplasmique (figure 12).

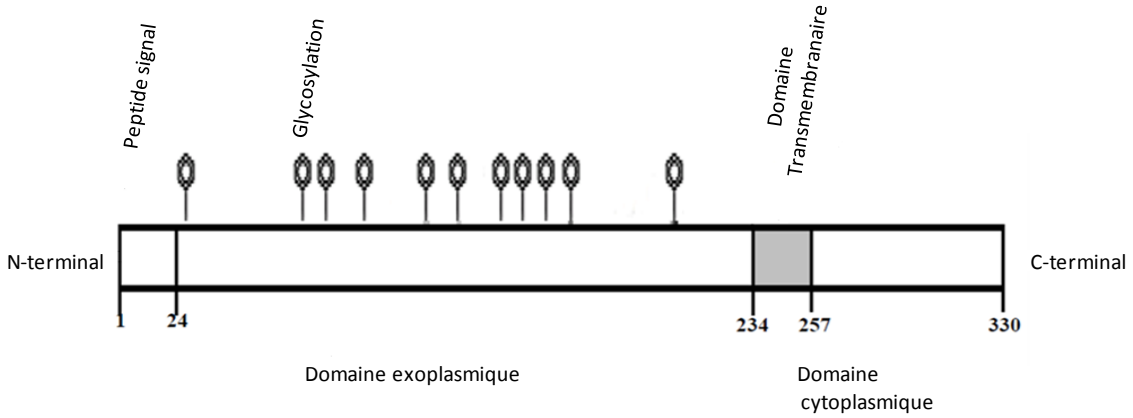

Figure 12. Schéma représentatif de différents domaines de la Muc 15 (ou PASIII)

(Pallensen et *al.*, 2002).

2.3.2.3. La xanthine oxydoréductase (XDH /XO)

La xanthine oxydoréductase (XOR) est un complexe molybdoflavoprotéique qui a été identifié pour la première fois dans le lait bovin (Schardinger, 1902). La xanthine oxydase (XO) et la xanthine déshydrogénase (XDH) sont des formes interconvertibles de la même enzyme ; xanthine oxydoréductase (Battelli *et al*., 1992, Page *et al*., 1998, Masuoka et Kubo, 2004 et Pacher *et al*., 2006). Les deux molécules peuvent être actives ou inactives (Berglund,1996). Des travaux ont montré qu'il existe 60%, 82%, 91% et 95% de forme inactive de la XO dans le lait bovin, caprin, ovin et humain respectivement (Baghiani et *al*., 1999, Atmani et *al*., 2005).

L'activité spécifique de la XO humaine est sensiblement inférieure à celle des autres espèces (Bagiani et *al*., 1999). Par contre elle est nulle chez l'espèce caméline à cause de l'absence de la forme active. Baghimi et *al*., 2003, suggère que les nouveaux nés camelins possèdent un système enzymatique qui réactive la XOR dans leurs intestins et génère par la suite des espèces réactives d'oxygène à visée antibactérienne.

Selon Mather, 2000 et Atmani, 2005 cette enzyme est active sous la forme d'un homodimère d'une masse moléculaire de 300 kDa. Chez le bovin chaque monomère est constitué de 1332 acides aminés. Chaque monomère contient une molybdoptérine comme cofacteur, deux groupements fer-soufre (Fe_2/S_2) et un centre flavine adénine dinucléotide (FAD) (Louisot., 1983) (Figure 13).

La xanthine déshydrogénase/oxydase (XDH/XO) représente à peu près 20% des protéines associées à la membrane de globule gras (Mather, 2000; Singh, 2006). Elle est considérée comme une protéine majeure de cette membrane. La XDH/XO joue un rôle structural et fonctionnel dans la genèse de la membrane globulaire ainsi que dans la sécrétion des gouttelettes lipidiques du lait par sa liaison avec le domaine cytoplasmique de la butyrophiline (Mather, 2000 et Kuwabara, 2003).

La XDH est la forme prédominante dans le tissu mammaire, alors que la XO est prédominante dans le lait (Mather, 2000).

Les méthodes de localisation intracellulaire montrent que la XOR se trouve à forte concentration dans le cytoplasme (Jarasch *et al*., 1981) et au niveau de la membrane cellulaire (Rouquette *et al*., 1998), et elle est très abondante dans le lait (Mather, 2000).

La XOR catalyse la conversion de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (le produit final du catabolisme des purines humains) (Usuda *et al*., 1988).

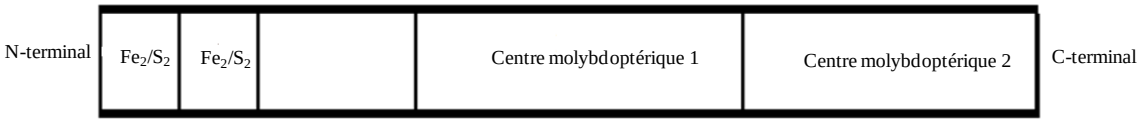

Figure 13. Schéma représentatif de différents domaines de la XDH/XO (Mather, 2000)

2.3.2.4. La Fatty Acid Binding Protein (FABP)

C'est une protéine de la surface de la membrane de globule gras (Brandt et *al*., 1988) constituée de 132 acides aminés (Spitsberg et *al*., 1995). Elle agit comme un facteur de différenciation de la glande mammaire (Yang et *al*., 1994).

2.3.2.5. La Butyrophiline (BTN)

Nommée aussi PAS V, la butyrophiline est une glycoprotéine transmembranaire de type I (Figure 14), appartenant à la superfamille des immunoglobulines. C'est une glycoprotéine acide exprimée spécifiquement dans la glande mammaire.

Cette protéine représente 20 à 40% des protéines de la membrane du globule gras et contenant 526 acides aminés pour la forme bovine non mature. Elle est fortement liée à la bicouche membranaire puisqu'elle n'est pas dissociée par des détergents incluant du SDS à 1% et des détergents non anioniques. Les solutions salines provoquent une dissociation partielle de la BTN (Mather et *al*., 1977). Par contre sa solubilisation est possible dans des solutions de SDS en présence de réducteurs du groupement thiol. Singh et *al*., 2006 suggèrent que les ponts disulfures ont un rôle important dans la stabilité de la protéine avec la membrane. La plupart de la BTN reste accrochée à la membrane même après la déstabilisation du globule gras.

Le séquençage de l'extrémité N-terminale de cette protéine chez la vache et la brebis a montré que les 14 résidus d'acides aminés N-terminaux de la butyrophiline ovine sont identiques à ceux de la protéine humaine (Montagne et *al*., 1999).

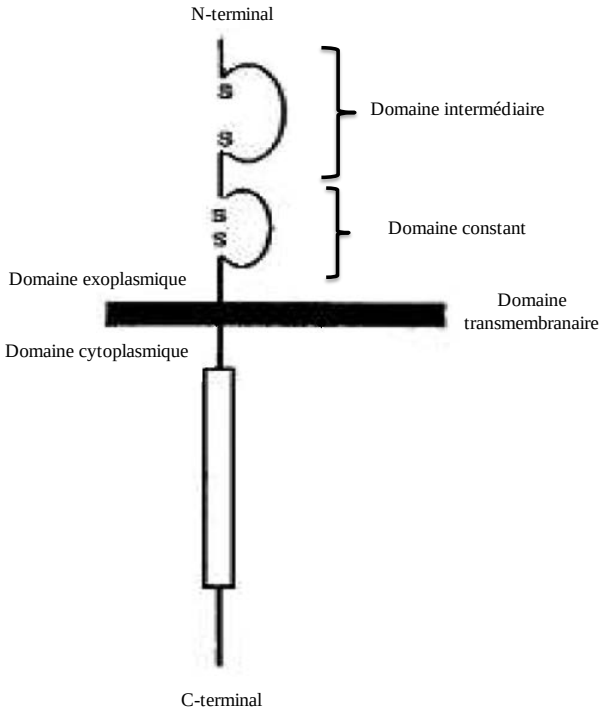

Figure 14. Schéma représentatif de différents domaines de la butyrophiline (Banghrat et *al*., 1988)

2.3.2.6. La Lactadhérine

La lactadherine bovine (LDH) appelée aussi PAS 6/7 (Periodic Acid Sciff 6 et 7), est une protéine extrinsèque hydrophile de 409 acides aminés. Des solutions tampons salines peuvent extraire cette protéine de la membrane de globule gras (Keenan et Mather, 2006). Le PAS 6/7 bovin apparait sous forme de deux bandes en SDS-PAGE à cause d'une différence de glycosylation d'un polypeptide unique. Les travaux de Hvarregaard et *al*., 1996 ont démontré que le PAS 6 a trois sites de glycosylation par contre le PAS 7 n'a que deux sites.

Sur un gel SDS-PAGE à 10%, la LDH du lait de chèvre et de la brebis apparaissent sous forme d'une seule chaine polypeptidique alors que deux et quatre isoformes ont été observées chez le dromadaire et la jument respectivement (Cebo et *al*., 2012).

En plus de ces protéines majoritaires, il ya un certain nombre de protéines minoritaires qui peuvent posséder des fonctions biologiques importantes, notamment des enzymes.

2.4. Facteurs affectant la stabilité de la membrane du globule gras du lait

Après la sécrétion du lait, et la traite des femelles, la composition et la structure de la membrane du globule gras changent. Le traitement thermique provoque la dénaturation des protéines de la membrane de globules gras du lait et formation d'un complexe de BTN et XO (Ye et *al*., 2002). L'homogénéisation donne une nouvelle membrane constituée essentiellement de caséines et des protéines du lactosérum.

Les facteurs physiologiques, physiques et/ou mécaniques et environnementaux affectent la membrane de globule gras entraînant ses changements qui risqueraient la perte de ses composants, l'adsorption des composants plasmatiques du lait ainsi que les réactions chimiques et enzymatiques. Tous ces risques peuvent ainsi affecter la stabilité du globule gras (Walstra et Jenness, 1984).

2.4.1. Facteurs physiologiques

L'alimentation, la race, la taille des globules gras et le stade de lactation, sont des facteurs qui influent sur la stabilité des globules gras (Anderson et Cawston., 1975).

2.4.1.1. La race

Peu d'études d'effet de la race sur la composition de la membrane de globules gras du lait ont été faites. Les vaches de race Swiss Brown secrètent des globules gras plus petits que les vaches de race Holstein (Caroll et *al.*, 2006). Les différences seraient dues à une

diminution des quantités secrétées de globule gras de petite taille (1,5 à 3 µm) et de taille moyenne (3 à 6µm) (Martini et *al*., 2004).

2.4.1.2. L'alimentation

La composition de la membrane de globule gras du lait et en particulier des composants lipidiques des acides gras varie en fonction du changement de l'alimentation entre l'hiver et l'été (Huang et kuksis, 1967). Des changements au niveau des lipides neutres de la membrane de globules gras ont été observés chez le lait des vaches qui reçoivent de l'huile de coco dans leur alimentation (Anderson, 1974). Les phospholipides de la membrane de globules gras issus des vaches nourries de tournesol et de suppléments de l'huile de soja contiennent une meilleure propriété que des phospholipides du lait normal à cause de sa richesse en d'acide linoléique (Smith et *al*., 1977). Une alimentation faible en fibre entraîne une augmentation de la teneur de phosphatidylethanolamine de la membrane de globules gras du lait et une baisse au niveau des quantités de phosphatidylcholine et de sphingomyeline.

Chez la vache, une alimentation riche en acides gras polyinsaturés entraine une augmentation au niveau des phospholipides de plus de 18%, une élévation de 30% de la concentration en sphingomyélines ainsi qu'une élévation de 1,7 fois au niveau de l'acide stéarique, de 1,36 fois au niveau des acides gras insaturés et de 7 fois au niveau des acides gras C18:1 trans.

2.4.1.3. Taille des globules gras

Les globules gras du lait de vache de la race Jercy ont une taille moyenne de 4,5 µm, par contre ceux des vaches de la race Frisonne présentent une taille de 3,5 µm, en plus il existe aussi des variations considérables entre la taille de la membrane de globules gras du lait des vaches de la même race (Singh, 2006).

2.4.1.4. Stade de lactation et facteurs saisonniers

L'étude de Asker et *al*., 1978, a montré que dans la membrane de globule gras du lait de bufflesse il ya des grandes différences au niveau de la teneur en carbohydrate entre le début de lactation (colostrum), mi et fin de lactation. Ainsi que la teneur en lipide et en protéines au niveau de la membrane augmente pendant l'été et atteint le maximum le mois de septembre.

2.4.2. Facteurs physiques et mécaniques

Plusieurs facteurs après la traite et au moment de la séparation du matériel des globules gras peuvent affecter la stabilité de la membrane de globules gras du lait.

Au moment de manipulation, l'air peut être incorporé dans le lait ce qui risque de casser la membrane de globule gras du lait qui entre en contact avec les bulles d'air (TeWhaiti et Fryer, 1975). Les machines à traire qui transportent l'air pour tirer le lait, provoquent des changements au niveau de la membrane de globule gras du lait (Evers et Palfreyman, 2001). L'agitation et le barattage du lait causent aussi l'agrégation des globules gras.

En effet, à 60°C, température inférieure à la température de dénaturation des protéines du lactosérum, la BTN et la XO commencent à s'associer en formant probablement des ponts dissulfure (Ye et *al*., 2002). L'effet du chauffage du lait à 80°C provoque la perte totale de PAS-6 et partielle de PAS-7 sans agir sur la taille et la surface des globules gras (Lee et Sherbon et *al*., 2002). A cette température et après 20 minutes ; une perte significative de triacylglycérol de la membrane de globule gras du lait est remarquée (Houlihan et *al*., 1992). En outre, un stockage au froid du lait (8°C) a pour résultat la perte de 10% des phopsholipides de cette membrane (Baumrucker et Keenan., 1973).

Quand le lait est chauffé avant homogénéisation, les protéines du lactosérum se dénaturent et interagissent avec la κ- caséine (Dalgleish et Banks, 1991).

2.4.3. Facteurs environnementaux

Les bactéries lactiques produisent des enzymes comme les lipases, les phospholipases, les protéinases et les hydrolases glycosidiques. Ces enzymes peuvent affecter les propriétés et la composition de la membrane de globules gras du lait (Shimizy et *al*., 1980, McPherson et Kitchen, 1983). Les mammites peuvent aussi être responsables de la production des enzymes. La membrane de globule gras du lait infecté contient peu de phospholipides et plus de protéines (Anderson et Cawston, 1975).

3. Les lipides du lait camelin

La matière grasse du lait camelin se caractérise par une grande proportion d'acides gras saturés à longues chaines (Sawaya et *al*., 1984 et Abu lehia, 1989) et insaturés (C_{14} – C_{18}), (Larsson-Razuikiewiez et Mohamed, 1994; Karray et *al*., 2004). Par contre les acides gras à chaines courtes sont présents à très faible quantité, ce qui n'est pas le cas pour le lait

bovin (Chilliard, 1989). Le lait de chamelle de Bactriane est plus riche en matière grasse que le lait de dromadaire (Faye et *al*., 2008).

4. Autres composants du lait

4.1. L'eau

Le dromadaire est caractérisé par la capacité d'avoir une teneur élevée en eau en cas de déshydratation (entre 86% et 91%).

4.2. Les minéraux

Le tableau 6 montre la teneur en sels minéraux du lait camelin. Le lait de dromadaire a une composition similaire à celle de la vache au niveau des macroéléments (Na,K, Ca….). Il se caractérise par une teneur plus élevée en oligoéléments par rapport à la vache. Ces oligoéléments sont indispensables au nouveau né car ils interviennent dans des nombreuses voies métaboliques.

La variation de la composition minérale du lait de dromadaire est influencée par l'état sanitaire de la glande mammaire ainsi que le stade de lactation (Farah, 1996).

Tableau 6. Concentrations en sels minéraux (mg/l) du lait de dromadaire et de la vache (Siboukeur, 2008)

Espèces	Ca	Mg	P	Na	K	Fe	Zn	Cu	Mn	I	Pb
Dromadaire	1060	120	630	690	1560	2,6	4,4	1,6	0,2	ND	ND
**(*Camelus*	1078	122	641	702	1586	2,64	4,47	1,63	0,20	ND	ND
***dromedarius*)**	1310	140	510	270	450	0,4	0,1	0,02	ND	ND	ND
	1160	80	710	360	620	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	300	45	ND	431	725	2,8	ND	ND	ND	ND	1,8
	1462	108	784	902	2110	3,4	2,9	0,1	2	0,1	ND
	1180	125	889	688	1464	2,34	6	1,42	0,8	ND	ND
	1182	74	769	581	1704	1,3	5	ND	0,1	ND	ND
	1230	90	1020	660	1720	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Vache	1000-1500	100-150	750-1200	350-1000	1200-1800	0,20-0,50	2-5	0,02-0,15	0,03-0,05	0,01-0,05	0,04-0,08
(*Bos taurus*)											

ND : Non Déterminé

4.3. Les vitamines

Le lait de dromadaire se caractérise par sa richesse en vitamines B3 (niacine) et en vitamines C (Tableau 7). Sa richesse en cette dernière explique l'utilisation du lait de dromadaire comme un moyen thérapeutique dans les pays asiatiques (Sharmanov et *al*., 1978, Farah et *al*., 1992). Farah, 1993 a signalé que le lait camelin contient une faible quantité des vitamines A, E et B (B2, B5 et B9).

Tableau 7. Composition en vitamines (µg/kg) du lait de dromadaire et de vache (Sawaya et *al*., 1984 ; Farah et *al*., 1992 ; Mehaia, 1994, Kappeler, 1998 et Farah, 1993)

Vitamines	Lait de dromadaire	Lait de vache
A (Rétinol)	100-150	170-380
B1 (Thiamine)	330-600	280-900
B2 (Riboflavine)	416-800	1200-2000
B3(Niacine)	4600-4610	500-800
B5 (Acide pantothénique)	880	2600-4900
B6 (Pyridoxine)	523-520	400-630
B12 (Cobalamine)	1,5-2	2-7
B9 (Acide folique)	4,1-4	10-100
E (Tocophérol)	530-560	100-200
C (Acide ascorbique)	24000-37000	3000-23000

4.4. Les sucres

4.4.1. Le lactose

Comme dans le lait bovin et tous les mammifères, le lactose est le glucide majoritaire. Il est synthétisé dans la glande mammaire et il est le principal facteur qui contrôle la pression osmotique du lait (peaker, 1980).

Sa concentration peut atteindre 68 g/l chez la femme (Martinez-Ferez et *al*., 2006). Hassan et *al*., 1987 ont montré que la teneur du lactose varie légèrement avec la période de lactation. Sa valeur maximale est de 56 g/kg de lait chez le dromadaire (Farah, 1993).

4.4.2. Les oligosaccharides

Outre le lactose, le lait contient de nombreux autres oligosaccharides (Morrow et *al*., 2004). En outre, Les travaux de Fukuda et *al*. (2010) ont montré que le lait et le colostrum camelin contiennent des oligosaccharides.

Ces oligosaccharides ont une structure souvent complexe (Boehm et Moro, 2008; Chilchlowski, 2011). Il s'agit des oligomères formés d'un nombre de n oses (monosaccharides) qui sont liés entre eux par des liaisons glycosidiques.

Dans le lait, les monosaccharides sont : D-glucose, D-galactose, L-fucose, N-acétylglucosamine, l'acide N-acétyl neuraminique et N-glucolylneuraminique.

Le pourcentage des glucides peut atteindre 10% du lait et/ou colostrum des mammifères où le lactose (Gal β (1-4) Glc) est en général le composant majeur (Urashima et *al*., 2010). Le lait et le colostrum humain contiennent 12 à 13 g/l et 22 à 24 g/l d'oligosaccharides respectivement. Par contre, le colostrum bovin n'en contient que 1 g/l.

Les oligosaccharides ont des fonctions biologiques intéressantes, ils agissent comme des récepteurs inhibant la fixation des pathogènes et des micro-organismes à la muqueuse du côlon, stimulant la croissance des Bifidobacterium dans le côlon (Urashima et *al*., 2009).

Chapitre II.

Matériels et Méthodes

I. Origine et collecte des laits

1. Laits de dromadaire

Les échantillons de lait (au nombre de cinq) utilisés ont été prélevés périodiquement tous les quinze jours le matin à partir des quatre femelles dromadaires saines multipares (*Camelus dromedarius*) âgés de dix à treize ans et à différents stades de lactation (entre vingt jours et deux cent trente jours de lactation). Les dromadaires proviennent de la station expérimentale de l'Institut des Régions Arides de Medenine au Sud Est de la Tunisie.

Un échantillon du colostrum du dromadaire a été obtenu à partir d'un animal d'une ferme de la région de Mareth au Sud Est de la Tunisie. Un échantillon de lait du dromadaire en provenance du Maroc a été utilisé à l'état frais pour les analyses moléculaires.

Les échantillons du lait sont ensuite conservés à -20°C jusqu'au moment de l'utilisation.

2. Laits de lama

Quatre échantillons du lait de lama ont été utilisés dans ce travail. Ces échantillons proviennent des animaux suivants :

- Une femelle âgée de sept ans à cinq mois de lactation issue du centre d'élevage de la Bouble (F-03320 Limoise), une femelle bipare âgée de trois ans et deux autres tripares âgées de quatre ans, les trois sont de cinq mois de lactation et proviennent du centre d'élevage « les lamas des Granades » (F-12200 Saint Rémy).

3. Autres laits

3.1. Laits de chèvre et de vache

Deux échantillons du lait de chèvre et de vache sont issus de deux fermes différentes de la région locale de Gabès (Sud Est de la Tunisie). Des échantillons de lait de chèvre proviennent aussi d'une ferme expérimentale de l'INRA, domaine de la Sapinière à Bourges (UE332).

3.2. Lait de jument

Le lait de jument est collecté après 133 jours de la mise bas. Ce lait est en provenance d'une ferme expérimentale INRA (Unité expérimentale Physiologie animale de l'Orfrasière, Nouzilly, France).

3.3. Lait de femme

Le lait de femme de quatre mois de lactation est issu d'un donneur volontaire de l'hôpital Bichat de Paris.

II. Extraction et dosage des différentes fractions protéiques du lait

1. Extraction des protéines du lactosérum

1.1. Protéines du lactosérum à analyser par électrophorèse bidimensionnelle

Une centrifugation à 400x*g* et à la température ambiante a été réalisée pour enlever la matière grasse. Le lait écrémé ainsi obtenu est centrifugé à 16000x*g* pendant 15 minutes à 4°C pour extraire les protéines du lactosérum qui se trouvent dans le surnageant.

Les protéines du lactosérum sont conservées à -80°C pour utilisation ultérieure.

1.2. Protéines du lactosérum à analyser par Chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC)

Après écrémage du lait par centrifugation à 100x*g* pendant 15 minutes à 4°C, une série d'étapes est réalisée par précipitation acide des caséines à pH 4,6 pour extraire les protéines du lactosérum du lait.

-Etape 1: Chauffage des laits à 37°C

Incubation de 400 µl de lait écrémé à 37°C pendant 30 minutes.

-Etape 2: Dilution des échantillons et précipitation des caséines à pH 4,6

- Ajout de 400 µl d'eau distillée, homogénéisation et incubation à 37°C pendant 5 minutes.
- Ajout de 80 µl d'acide acétique 10%, homogénéisation et incubation à 37°C pendant 5 minutes.
- Ajout de 80 µl d'acétate de sodium 1 N.
- Après homogénéisation du mélange, le pH est ajusté à 4,6.
- Incubation à température ambiante pendant cinq à dix minutes.

- Etape 3: Récupération du surnageant (lactosérum acide)

- Centrifugation à 1500x*g* pendant 5 minutes à la température ambiante.
- Récupération du lactosérum acide (Surnageant) à l'aide d'une seringue à aiguille.
- Filtration du lactosérum et conservation à -80°C en aliquots de 150 µl.

2. Extraction des protéines de la membrane de globules gras du lait

Les échantillons du lait ont été mélangés, 45 ml de ce mélange ont été centrifugé à 100x*g* pendant 15 minutes à 4°C pour récupérer la crème à l'aide d'une spatule propre désinfectée à l'éthanol.

Les globules gras sont récupérés du surnageant (la crème). Cette crème ainsi obtenue est débarrassée des constituants du lait écrémé, essentiellement les caséines résiduelles et les protéines du lactosérum adsorbés aux globules gras éventuellement par deux lavages avec 40 ml de NaCl 0,9% (P/V) en centrifugeant à chaque fois à 1000x*g* pendant 15 minutes à 10°C.

Une dernière centrifugation à 1000x*g* pendant 5 minutes est faite afin d'enlever le liquide sous la matière grasse donc enlever toute source de contamination par les protéines du lait. La matière grasse est pesée et conservée à -80°C pour utilisation ultérieure.

Les membranes de globules gras du lait sont préparées à partir de la matière grasse lavée suivant le protocole de Reinthard et Lippolis. (2006) avec quelques modifications. Pour cela, nous avons préparé les tampons suivants :

Tampon A : 10 mM Tris/HCl, 2 mM $MgCl_2$, Cocktail inhibiteurs de protéases (Roche Diagnostics), 10 mM EDTA

Tampon B: Tampon A + 30 mM KCl

Tampon C: Tampon A + 150 mM KCl

La matière grasse lavée est diluée dans 5 ml du tampon A. L'échantillon est par la suite homogénéisé par broyage à l'aide d'un broyeur de type Polytron PT 1600 E (KINEMATICA AG) à 13500x*g* quatre fois. Chaque étape d'homogénéisation dure 12 secondes avec refroidissement 30 secondes de l'échantillon entre chaque homogénéisation. Après, 5 ml du tampon B est ajouté à l'homogénat.

Le mélange ainsi obtenu est centrifugé une heure à 100.000x*g* à 4°C. Le culot est lavé par le tampon C avec une deuxième centrifugation dans les mêmes conditions.

Enfin, le culot de la membrane de globule gras ou fractions des protéines non solubles subissent une nouvelle homogénéisation avec la solution de resuspension constituée de 10 mM Tris/HCl pH 7,5 en présence des antiprotéases (Roche).

3. Extraction des immunoglobulines

Les immunoglobulines ont été purifiées à partir des protéines du lactosérum du colostrum du dromadaire et de différents laits (dromadaire à différents stades de lactation et femme).

La purification des immunoglobulines est réalisée avec un kit « IG-ADEM-KIT 04400 For total Ig purification. Ademetech). Ce kit est basé sur l'utilisation d'une simple technique de séparation biomagnétique sans utilisation des colonnes et des étapes de centrifugation.

Les différentes étapes de séparation sont les suivantes :

3.1. Liaison

625 µl des protéines du lactosérum sont introduits dans les micro-tubes contenant les billes magnétiques avec 875 µl du tampon de liaison « Binding Buffer». Le mélange est soumis à une légère agitation à la température pendant deux heures.

3.2. Lavage

Le lavage se fait 9 fois avec 1500 µl du tampon de lavage « Washing Buffer » dilué trois fois avec l'eau distillée.

3.3. Elution

400 µl du tampon sont ajoutés au mélange. Après homogénéisation pendant cinq minutes, les tubes sont placés sur le support aimanté. Le surnageant ainsi obtenu contient la fraction la plus concentrée en immunoglobulines.

Cette étape est refaite deux fois et deux autres fractions moins concentrées ont été récupérées.

4. Détermination de la teneur en protéines

Le dosage des protéines est réalisé par le kit Bio-Rad RC-DC Protein assay, c'est un dosage colorimétrique en présence des agents réducteurs et détergents selon la méthode de Lowry et *al*. (1951) avec quelques modifications.

III. Approche protéomique

1. Séparation des protéines

1.1. Electrophorèse en Gel de Polyacrylamide en conditions dissociantes et dénaturantes avec le Dodécyl Sulfate de Sodium (SDS-PAGE : Sodium Dodécyl Sulfate Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis)

L'électrophorèse est conduite dans une cuve mini-protean 3 (BIO-RAD). Le support électrophorétique est constitué de deux gels de polyacrylamide d'une épaisseur de 0,75 mm : un gel de séparation (6%, 10%, 12,5% ou 15 %) de concentration d'acrylamide (Voir annexe 1), son pH est de 8,8, surmontée d'un gel de concentration à 4,5% d'acrylamide (p/v) de pH 6,8 (annexe 1). La préparation des solutions mères de SDS-PAGE est illustrée dans l'annexe 2.

En effet, 25 µg de l'échantillon protéique du lait est chauffé pendant 5 min à 96°C en présence du SDS (10% P/V) et du 2 béta-mercaptoethanol (4% v/v : 2-mercaptoethanol / Tampon NuPAGE LDS 4X), agent réducteur chargé pour rompre les ponts disulfure. Le SDS permet la solubilisation des protéines. Il se fixe sur les zones hydrophobes des chaines peptidiques qui acquièrent une charge négative. La séparation ne se fait que suivant leur taille dans un gel de porosité appropriée.

La migration des protéines se fait verticalement à température ambiante sous une tension continue de 120 volts. Une fois la migration est finie, le gel est démoulé, il est coloré ensuite avec le Biosafe (Biorad). La décoloration du gel est réalisée par deux rinçages avec de l'eau ultrapure (milliQ). Ce procédé nous permet de déterminer les masses moléculaires des protéines de l'échantillon avec la comparaison de celles des protéines standards (NIPPON Genetics, EUROPE GmbH) séparées dans le même gel.

1.2. Electrophorèse bidimensionnelle sur gel ou gel 2D

Les protéines sont séparées suivant une première dimension en fonction de leur charge par focalisation isoélectrique (IEF) puis suivant une deuxième dimension en fonction de leur taille moléculaire (SDS-PAGE). Cette technique est appropriée à l'étude des protéines comprises entre 10 et 300 kDa avec un point isoélectrique compris entre 4 et 10.

600 µg des protéines du lactosérum du lait de dromadaire ont été réhydratées dans une solution contenant : urée/thiourée (7M/2M), 4% de CHAPS 100 mM de dithiothreitol DTT,

0,5% des ampholytes IPG « Immoblized pH Gradient » pH 4-7 (5 µl/ml) et une solution saturée du bleu de bromophenol (3µl/ml) pour avoir un volume final de 450 µl. Les échantillons sont ensuite soumis au vortex pendant 15 minutes et centrifugés pendant 5 minutes puis déposés sur le plateau d'isoélectrofocalisation IEF. Les strips (bandelette du gel) de 24 cm de longueur s'imbibent 30 minutes avec les échantillons.

La réhydratation et la focalisation électrique se déroulent à 18°C en utilisant le programme indiqué dans l'annexe 3.

Les protéines sont réduites par 10 mg/ml de DTT et alkylées dans 200 mM d'iodoacétamide. En deuxième dimension, les strips sont tout d'abord équilibrés dans une solution tampon contenant : 6 M d'urée; 2% du SDS; 0,375 M du Tris à pH 8,8; 30% du glycérol et de l'eau ultrapure (milliQ), puis déposés sur le gel à 12,5% de SDS-PAGE (22x20 cm) (composition du gel en annexe 4). L'ensemble est après couvert par une solution de 1% d'agarose.

Le SDS-PAGE a été réalisé dans une multicuve d'électrophorèse « Amershan/GE Healthcare » à 5 mA / gel pendant 30 min, 8 mA / gel pendant 30 minutes et enfin 1 W / gel pendant la nuit.

A la fin de la migration, les gels sont démoulés et rincés deux fois à l'eau ultrapure (milliQ) sous une légère agitation pendant sept minutes puis colorés avec 250 ml de solution BioSafe sous une légère agitation et enfin la décoloration de bruit de fond se fait en balançant les gels dans un bain d'eau ultrapure. Ces deux dernières étapes sont répétées deux fois avant de scanner les gels.

1.3. Chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC)

Les échantillons ont été centrifugés pendant 20 min à 1500 g à 20 °C pour séparer la matière grasse du lait écrémé. La dissociation des micelles des caséines est réalisée par l'ajout d'une solution de clarification (0,1 M de Tampon Bis-Tris, pH 8,0, contenant de l'urée 8 M, 1,3% de citrate tri-basique de sodium et 0,3% de di-thio-thréitol-DTT), comme décrit par Miranda et *al*. (2004). 40 µl de l'échantillon sont directement injectés sur la colonne de chromatographie (Jupiter C5 Phase Inverse, 300 Å, 5 µm, 250 x 4,6 mm; Phenomenex), La séparation des protéines a été effectuée sur un appareil GOLD (Beckman Coulter) en appliquant le gradient suivant des solvants A (0,1% TFA acide trifluoroacétique dans de l'eau ultrapure) et B (0,08% TFA dans de l'acétonitrile): de 0 à 33% B en 5 minutes, de 33 à 39% de B en 5 minutes, élution isocratique à 39% B pendant 15 minutes et 39 à 50% de B en 15 minutes. La température de la colonne a été maintenue à 47 °C, le débit a été fixé à 1 ml/min

et l'absorbance a été détectée à 214 nm, longueur d'onde d'absorption de la liaison peptidique. Les fractions correspondant aux pics principaux ont été collectées pour les séparer sur gels SDS-PAGE.

La quantification de chaque protéine a été effectuée en intégrant les surfaces des pics chromatographiques avec le logiciel 32 Karat de Beckman Coulter.

2. Les techniques d'analyse protéomique

La spectrométrie est une technique d'analyse qui peut identifier des molécules. Elle est efficace pour identifier une protéine unique ou même des mélanges contenant des protéines. En fait, elle peut fournir des informations structurales sur les biomolécules et caractériser dans un échantillon donné la présence de peptides répertoriés et d'identifier également les peptides non encore connus. Le spectromètre de masse est l'appareil qui comporte la source d'ionisation. Le principe est le fait que les molécules sont tout d'abord ionisées. Après, les analyseurs fournissent en sortie des informations sous forme de spectre de masse contenant des pics d'intensité variable (Figure 15 « Exemples de différents types de spectre de masse »).

Dans ce présent travail, nous avons utilisé trois techniques protéomiques: la technique de MALDI-TOF et les techniques d'analyse protéomiques : la LC-MS/MS (Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en Tandem) et la RP-HPLC/ESI-MS (Chromatographie liquide à haute performance en phase inverse couplée à la spectrométrie de masse-ionisation electrospray).

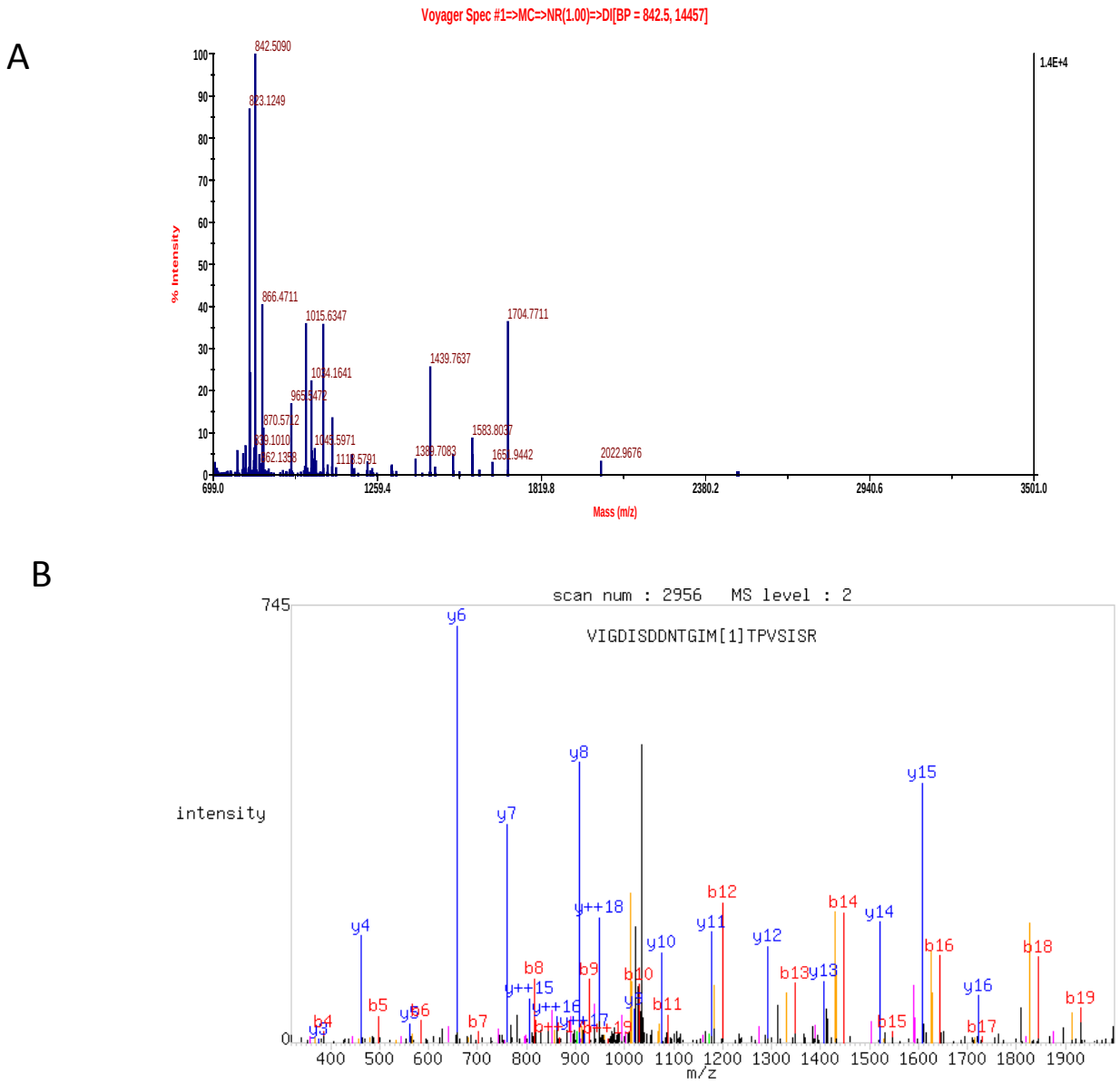

Figure 15. Exemple d'un spectre MALDI (A) et d'un spectre MS/MS (B)

2.1. La carte peptidique massique de la protéine (PMF : Peptide Mass Fingerprinting)

Le MALDI-TOF est un spectromètre de masse couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI « Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation ») et un analyseur à temps de vol (TOF « Time-of-Flight »). Cette technique permet d'obtenir une carte peptidique massique représentant la distribution des masses des fragments peptidiques issus de la digestion trypsique de la protéine à identifier.

La première étape est l'hydrolyse ou digestion trypsique des protéines qui permet de rompre les liaisons peptidiques pour obtenir ainsi des fragments plus petits : les peptides. La majorité des agents employés sont des enzymes et la trypsine est l'enzyme la plus fréquente,

elle permet de produire de nombreux peptides de taille exploitable. La trypsine coupe les liaisons peptidiques qui suivent les lysines et les arginines, sauf si elles sont immédiatement suivies d'une proline.

Les bandes ou spots d'intérêts sont découpés du gel 2D ou 1D et lavés trois fois avec 100 à 200 µl d'eau milliQ pendant 15 minutes. Leur décoloration est faite trois fois par un mélange de solution de 50 % de bicarbonate d'ammonium (50mM) et 50% d'acétonitrile. Le surnageant est éliminé entre chaque lavage et les gels sont ensuite séchés au speed vac à la température ambiante pendant 10 minutes pour la trypsinolyse.

Cinq µl de la solution de trypsine promega (0,25 µg) sont déposés sur chaque morceau de gel. Après quelques minutes d'absorption, 25 à 30 µl de tampon bicarbonate (50 mM, pH=8,2) sont ajoutés pour couvrir les spots. Les échantillons sont enfin incubés dans un bain-marie à 37°C pendant toute une nuit.

Afin d'identifier les protéines majeures et les protéines du lactosérum du lait de dromadaire et de lama, un µl de chaque surnagent du produit de digestion est déposé sur plaque MALDI pour permettre l'identification en mode spectrométrie de masse. La matrice utilisée (1µl d'acide α-cyano-4-hydroxycinnamique saturé à 5 mg/ml dans mélange de TFA (0,3%)/acétonitrile (50/50 v/v)) est ajouté sur l'échantillon pour se cristalliser directement sur la plaque MALDI. Cette dernière est insérée dans le spectromètre de MALDI-TOF (Applied Biosystems Inc., Framigham, MD) qui est en mode réflexion positif. La désorption et l'ionisation des peptides se fait avec un laser à l'azote à 337 nm. Un spectre de masse généré à chaque tir laser, l'accumulation de 200 à 800 spectres est réalisée pour obtenir une intensité d'environ mille sur plusieurs pics.

La calibration du spectromètre de masse est interne. En effet, la trypsine s'autolyse et génère des peptides de masses connues, les fragments d'autolyse de la trypsine mono-isotopiques utilisées comme étalons sont 842,509 m/z ; 1045,56 m/z ; 2211,104 m/z.

Les protéines ont été identifiées en interrogeant les bases de données protéiques (base non redondante du NCBI, Uniprot) à l'aide du logiciel Protein Prospector.

2.2. RP-HPLC/ESI-SM

Afin d'identifier les protéines du lait de dromadaire et de lama, les échantillons du lait écrémé ont été analysées par RP-HPLC couplée au spectre de masse d'ionisation electrospray.

10 µl du lait écrémé de lama et 20 µl du lait de dromadaire ont été tout d'abord clarifiés par 490 µl et 480 µl respectivement de solution de clarification.

L'échantillon (15µl pour le lactosérum et 20 µl pour le lait écrémé) est directement injecté sur la colonne (C5 Discovery® Bio Wide Pore (Supelco) 150 x 2,10 mm, 300 Å) et la condition de l'analyse est suivie sur la RP-HPLC. La température du passeur automatique des échantillons est maintenue à 10°C et celle de la colonne est maintenue à 52°C.

La phase mobile de la colonne est composée d'un mélange de gradient de solvant A (0,025% de TFA dans l'eau pure) et de solvant B (0,02% TFA dans l'acétonitrile) avec un débit de 0,2 ml/minute.

L'élution est faite par un gradient à trois paliers : 28% pendant 2 minutes, 33% pendant 15 minutes et 41% pendant 15 minutes.

Les protéines éluées sont ensuite détectées par l'absorbance UV à 214 nm et la colonne est directement connectée au spectromètre de masse ESI-TOF (micrOTOF™ II focus, Bruker Daltonics). Le mode ions positif a été utilisé et les scans de masse ont été acquis pour un intervalle de m/z entre 20 et 3000.

La tension de la plaque est maintenue à -500 V et le voltage de capillaire à 4500 V. La pression de gaz (N_2) est maintenue à 17,4 psi, et le flux de séchage de gaz (N_2) a été fixé à 8l/minute à une température de 200°C.

Le système LC-MS est contrôlé par le logiciel Hystar V.2.3 (Bruker). Le logiciel d'analyse de données v.3.4 (Bruker) a été utilisé pour déterminer le nombre de charge des ions multichargés, les spectres de masses ainsi que les masses moléculaires relatives.

Les données d'analyses d'UV ont été obtenues par le logiciel Hystar de post traitement.

2.3. Chromatogaphie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS

En protéomique, la chromatographie liquide (nano-LC) sert à concentrer et de séparer un mélange plus ou moins complexe de peptides. Le développement de la nano-LC a pour objectif d'améliorer la limite de détection afin de pouvoir travailler avec des faibles quantités de matériel.

Puisque l'électrophorèse ne permet pas l'accès à certaines protéines surtout celles de pH extrêmes ou hydrophobe, une technique alternative qui consiste au couplage gel SDS PAGE suivi d'une séparation par nano LC-MS/MS a été utilisée afin d'identifier les protéines de la membrane de globule gras du lait des Camélidés. Ce système LC-MS/MS est constitué de deux composants : un appareil de chromatographie liquide et d'un spectromètre de masse.

Dans cette approche, la séparation est réalisée d'une part sur les protéines (gel SDS) et sur les peptides (nano-LC).

Les protéines de la membrane de globules gras du lait de dromadaire ont été séparées sur un gel SDS-PAGE 6%, le lait dilué et les protéines de la membrane de globules gras du lait du lama ont été séparés sur gel SDS-PAGE 10% pour les analyser par LC-MSMS. Chaque piste du gel a été découpée systématiquement en 26 morceaux pour le dromadaire et 24 morceaux pour le lama (1 mm^2) et transféré sur une plaque de 96 puits en polypropylène qui ont été percés par laser (4titude, Framestar, 0750/Las). Les morceaux de gels ainsi obtenus sont lavés pendant 15 minutes avec un mélange de 50% d'acétonitrile et 50% de bicarbonate d'ammonium (100 mM).

0,1 µg de trypsine (Promega, sequencing grade) est dissout dans le tampon de bicarbonate d'ammonium (50 mM), pH 8,0. La digestion est poursuivie pendant six heures à 37°C. Après la centrifugation de la plaque, le surnageant est transféré dans une autre plaque de 96 puits, sans trous (4titude, Frame star, 0960/C). Les peptides issus de la digestion trypsique des protéines ont été extraits par l'acide formique (5%) dans l'eau /acétonitrile (v/v) puis desséchés et remis en suspension dans 20µl de 0,1 % d'acide trifluoacétique. Des petites quantités des échantillons ont été mélangées pour l'injection au LC-MS/MS.

La chromatographie liquide a été effectuée sur un système LC Ultimate 3000 (Dionex). L'échantillon à analyser contenant le mélange peptidique est chargé à 20µl/min. Le mélange peptidique est ensuite injecté au niveau de la pré-colonne cartouche (phase stationnaire : C18 pepMap 100, colonne : 300 µm i.d., 5 mm ; Dionex) et dessalé avec 0,08% de TFA et 2% d'acétonitrile. Quatre minutes après, cette pré-colonne est connectée à une colonne apolaire, type C18 (Phase stationnaire : C18 PepMap 100, 3µm, colonne : 75 µm id., 150 mm ; Dionex).

La séparation des peptides a été réalisée avec un gradient linéaire de 0 à 36% de tampon B (0,1% d'acide formique et 80% d'acétonitrile) pendant 18 min à 300 nL/min, y compris l'étape de régénération à 100% de B et l'étape d'équilibrage à 100% de tampon A (0,1% d'acide formique, et 2% d'acétonitrile), une exécution a pris 50 min. Les peptides élués sont analysés par le spectromètre de masse LTQ-Orbitrap (Thermo Electron). Au cours de leur élution, ces peptides sont transmis vers la source du spectromètre de masse (nanoESI : nanoelectrospray), où ils vont être ionisés. Les ions sont transmis vers la trappe, piégés et expulsés avant l'analyse des masses. Les ions sont libérés par un balayage de radiofréquences qui s'applique proportionnellement au rapport m(masse)/z(charge) puis détectés par l'appareil qui mesure la masse des ions. L'appareil identifie les trois ou quatre ions les plus intenses,

sélectionne l'un de ces ions, l'isole dans la trappe et lui transmet une radiofréquence de telle façon qu'il se fragmente partiellement. Les ions issus vont être expulsés avec un balayage de radiofréquence. La mesure des masses permet d'accéder à la séquence en acides aminés de l'ion de départ.

Lorsque les quatre ions sont analysés, l'appareil recommence un cycle complet d'un simple spectre de masse. Le nombre de peptides analysés ainsi que la quantité des informations peuvent varier en fonction de la rapidité et de la génération du spectre de masse.

3. Analyse des données par des outils de bioinformatique

La dernière étape consiste à consulter les bases des données pour identifier les protéines d'intérêt. Les différentes informations récoltées sur les protéines analysées par MALDI-TOF comme (la masse théorique, la masse observée, le point isoélectrique, la taille des fragments après la digestion trypsique et les séquences partielles) sont comparées aux bases de données de module MS-FIT dans Protein Prospector en ligne :

(http://prospector.ucsf.edu/prospector/cgi-bin/msform.cgi?form=msfitstandard).

Vu que le génome du dromadaire n'est pas complètement séquencé, nous avons comparé nos données non seulement avec ce qui est disponible en ligne chez *Camelus dromedarius* mais aussi avec d'autres mammifères comme *Bos taurus*.

L'accumulation des données spectrales LC-MS/MS issues de la fragmentation des peptides permet non seulement l'identification des protéines, mais aussi de traiter ces données afin d'identifier les protéines d'où les peptides sont issus pour entamer les recherches dans les banques de données. Dans ce présent travail, trois bases de données on été utilisées :

Une base pour le lama :

- Base de données des Camélidés (NCBI, Site : http://nci.nlm.gov,november 2013, 23501 entrées de protéines).

Deux bases pour le dromadaire

- Base de données des mammifères Uniprot KB (version Janvier 2012 avec 872.782 entrées de protéines).

- Base de données de Chameau EST (Expressed Sequence Tag). Il s'agit d'une séquence partielle de l'extrémité de l'ADNc correspondant à un gène exprimé. Cette base est disponible sur le site (http://camel.kacst.edu.sa/) traduit en 6 cadres de lecture ORF (Open Reading Frame), Cette base de données ainsi que la base de données de contaminants ont été utilisées par l'algorithme X !Tandem (version 2010.12.01.1) qui permet de regrouper les

peptides trouvés par LC-MS/MS sans les contaminants. Par contre pour le lama, la version X !Tandem utilisée est : (version 2013.06.15, http://www.thegpm.org/tandem/) en utilisant X ! Tandempipeline 5version3.3.1) développée par la plateforme PAPPSO (http://papso.inra.fr/bioinfo).

Un seul clivage raté a été autorisé pour la trypsine. La carbamidomethylation des résidus cystéine a été défini comme une modification fixe et l'oxydation des résidus de méthionine comme une modification variable. Les résultats ont été filtrés à l'aide de l'analyseur X-construits en tandem (version 3.1.5 x! pipeline tandem;)! Avec le peptide d'un E-value (Expected value) de 0,05 et une protéine de log (Evalue) de 4 et au moins deux peptides.

Les informations obtenues en protéomique permettent de caractériser de plus en plus finement les protéines étudiées. Si la protéine n'est pas référencée dans les banques de données, la séquence peptidique de 5 à 6 acides aminés peut permettre l'identification de la protéine par homologie de séquence grâce aux logiciels de type BLAST ou Fasta 3. Ces logiciels réalisent l'alignement des séquences qui pourront permettre l'identification de la protéine, même si celle-ci est légèrement mutée.

Etant donné le génome de dromadaire n'est pas séquencé, les 322 séquences FASTA des protéines de la membrane de globule gras du lait de dromadaire identifiées par LC-MS/MS ont été blastées contre les bases de données humaines (UniprotKB/Swiss-Prot) en utilisant le blastp suite disponible sur le site NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) et 319 entrées uniques humaines UniprotKB, ont été validées manuellement.

Le logiciel « the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) version V6.7», l'outil de bioinformatique (Bioinformatics Resources 6.7 at the National Institue of Allergy and infectious Diseases (NIAID), NIH) a été utilisé pour l'annotation « gene ontology (GO) » (processus biologique, fonction moléculaire et compartiment cellulaire).

4. Séquençage de novo

L'approche dite de séquençage *de Novo* permet de séquencer des protéines pour des espèces dont le génome n'est pas encore entièrement séquencé. Dans cette étude, les protéines du lait écrémé de dromadaire et de lama ont été séparées par SDS-PAGE, la bande correspondante à l'α-lactalbumine pour chaque espèce a été découpée et digérée par la trypsine. Les peptides résultant de la digestion enzymatique ont été extraits, séparés par

chromatographie en phase liquide, fragmenté, ionisé et finalement captée par le spectromètre de masse.

Puisque le génome lama n'est pas séquencé, l'identification des peptides par une approche de recherche de base de données classique n'était pas possible. Nous avons donc utilisé une approche intégrée combinant le séquençage du peptide directe à partir des spectres en tandem par l'algorithme PepNovo en se basant sur la base de données de mammifères de NCBI et les bases de contaminants. Les résultats ont été ensuite validés manuellement en calculant la différence de masse entre les pics du spectre correspondantes aux peptides présentant une mutation d'acide aminé par rapport à la séquence de la protéine α-lactalbumine de dromadaire (Uniprot Kb numéro d'accession P00710).

5. Western blot

Le western blot est une technique immunologique d'identification des protéines. Nous avons utilisé cette méthode pour détecter et identifier la lactadhérine dans les protéines de la membrane de globules gras et les immunoglobulines dans le lactosérum du dromadaire.

5.1. Détection de la lactadhérine

Vingt microgrammes des protéines de la membrane de globule gras du lait sont séparés sur un gel SDS-PAGE 6%. Ces protéines sont ensuite transférées depuis le gel sur une membrane de nitrocellulose. La membrane est après bloquée par incubation pendant une heure à la température ambiante (20°C) dans une solution saline du tampon Tris (Tris Buffered Saline « TBS ») contenant 0,1% Tween 20, 1% du lait écrémé en poudre et 1% du polyvinylpyrrolidone (Sigma- Aldrich) pour éviter la fixation aspécifique d'anticorps ultérieurement. La membrane est lavée rapidement avec le TBS et incubée pendant deux heures avec l'anticorps bovin anti-lactadherine (Sigma-Aldrich) (1/10,000).

La membrane est ensuite lavée dans le tampon de lavage (TBS contenant 0,1% Tween 20) sur une plateforme d'agitation en faisant au moins trois lavages de 5 minutes puis trois autres lavages de 15 minutes ou plus chacun. Chaque lavage est effectué à température ambiante avec du tampon de lavage frais. L'augmentation du volume de tampon et du nombre de lavage réduit le niveau de bruit de fond.

La membrane est ensuite incubée avec l'anticorps secondaire produit chez la chèvre contre des antigènes de lapin « Goat anti-Rabbit» couplé à la peroxydase (HRP) (1/5,000, Interchim, Montluçon, France).

L'immunocomplexe est enfin révélé par le système de chimiluminescence (ECL) (Dutscher, Brumath, France).

5.2. Détection des immunoglobulines

Trente microlitres des immunoglobulines (Ig) purifiées à partir de lait de femme et de dromadaire sont séparés sur un gel SDS-PAGE 12%. Ces protéines sont ensuite transférées depuis le gel sur une membrane de nitrocellulose sous 70 volts pendant une heure et trente minutes. La membrane est après bloquée par incubation pendant trente minutes à la température ambiante dans une solution de 5% du lait écrémé dans le TBS-Tween pour éviter la fixation aspécifique d'anticorps ultérieurement. Après avoir éliminé la solution de blocage, la membrane est lavée trois fois avec le TBS-Tween pendant trente minutes et incubée avec l'anticorps secondaire une heure et trente minutes à 4°C.

Différents anticorps secondaires ont été utilisés pour détecter les IgG (la protéine A, Goat anti-Rabbit IgG: chèvre anti-lapin IgG et Goat anti-Mouse IgGM: chèvre anti-souris IgGM). Chaque anticorps est dilué 5000 fois dans une solution de 1% du lait dans le TBS-Tween. L'immunocomplexe est enfin révélé par le système de chimiluminescence (ECL) (Dutscher, Brumath, France).

IV. Approche moléculaire

1. Extraction de l'ARN

Pour 1 ml de crème du lait frais de dromadaire ou du sang frais de lama, on ajoute 10 ml du trizol pour l'homogénéisation et la lyse cellulaire. Le mélange est ensuite agité jusqu'à dissolution complète puis aliquoté dans des tubes de 2 ml (environ 2 ml par tube).

Afin de permettre la dissolution complète des complexes protéiques, l'homogénat est incubé pendant 5 minutes à la température ambiante. Après la centrifugation de dix minutes à 12000g et à 4°C, la phase Trizol (phase inférieure) est récupérée, 0,2 ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de trizol. Le mélange est agité vigoureusement quinze secondes et incubé huit minutes à la température ambiante. Après une centrifugation de quinze minutes à 4°C et 12000g, le mélange est séparé en trois phases. L'ARN se trouve dans la phase supérieure (aqueuse) qui sera enfin récupérée dans un tube propre.

Afin de précipiter l'ARN extrait de la crème, un volume de 0,6 ml d'isopropanol est ajouté pour 1 ml d'homogénat. Après agitation vigoureuse, la solution est incubée 10 minutes

à la température ambiante puis centrifugée 10 minutes à 4°C à 12 000 g. L'ARN se qui trouve sous forme de culot est enfin lavé avec de l'éthanol 75% RNAse free.

La purification des ARN issus du sang des lamas a été réalisée avec un kit PicoPure (Excilone).

La première étape consiste à pré-conditionner les colonnes avec 250 µl de tampon « Condition Buffer » fournit avec le kit en incubant la colonne cinq minutes à la température ambiante avant de les centrifuger une minute à 16000 g.

Les colonnes sont après chargées de volume à volume d'éthanol 70% fournit avec le kit et la solution d'ARN. Afin de permettre la fixation de l'ARN à la membrane, une centrifugation de deux minutes à 100 g suivie d'une autre de 30 secondes à 16000 g est réalisée. Après, chaque colonne est lavée avec 100 µl de Wash Buffer fourni avec le kit et centrifugée une minute à 8000 g. Le mélange est ensuite traité à la DNase I afin d'éliminer l'ADN génomique qui pourrait altérer l'analyse qui suit l'extraction.

Enfin, les ARN sont lavés avec le « Wash Buffer 2 » fourni avec le kit et les colonnes sont transférées dans des tubes de 0,5 ml avec environ 15 µl du tampon d'élution par tube. Pour éluer les ARN, le mélange est centrifugé une minute à 1000x*g* puis 16000x*g*. Les ARN élués sont enfin congelés à -80°C prêts pour la rétrotranscription.

2. Analyses qualitative et quantitative de l'ARN

La quantification se fait par le Nanodrop 1000 (ThermoFisher Scientific, Rockford, Illinois, USA), un spectrophotomètre UV-Visible (220-750 nm). Il permet non seulement la quantification mais aussi la vérification par spectrophotométrie de la qualité des acides nucléiques contenu dans 1 à 2 µl de solution. Dans ce cas, la concentration est mesurée à 260 nm. Des pics d'absorbance à 230 et 280 nm indiquent respectivement une contamination phénolique et protéique. Le rapport DO 260/DO 280 doit être supérieur à 1,8 et le rapport DO 260/DO 230 doit être compris entre 1,8 et 2,2.

La vérification de l'intégrité de l'ARN se fait avec le système d'électrophorèse capillaire sur puce (Agilent RNA 6000 Pico Kit) qui ne nécessite que 1 µl d'échantillon.

Une faible quantité d'ARN (50 à 5000 pg/ µl) est déposée dans chaque puits en présence d'un marqueur fluorescent. Les résultats sont visualisés sous forme d'électrophorégramme et le logiciel évalue l'intégrité de l'ARN et attribue un indice de qualité RIN (RNA Integrity Number) à chaque échantillon. La valeur RIN s'étend de 1 à 10.

Un RIN de 1 correspond à un ARN totalement dégradé et un RIN de 10 correspond à un ARN de très bonne qualité.

3. Transcription reverse suivie d'une polymérisation en chaine (RT-PCR)

RT-PCR signifie *Reverse Transcriptase* PCR, soit une amplification des fragments d'ADN complémentaires obtenus de la rétrotranscription des ARNm correspondants aux gènes d'intérêt.

Pour réaliser la RT-PCR le kit Super Script III a été utilisé. La procédure se fait en plusieurs étapes comme l'indique la figure 16.

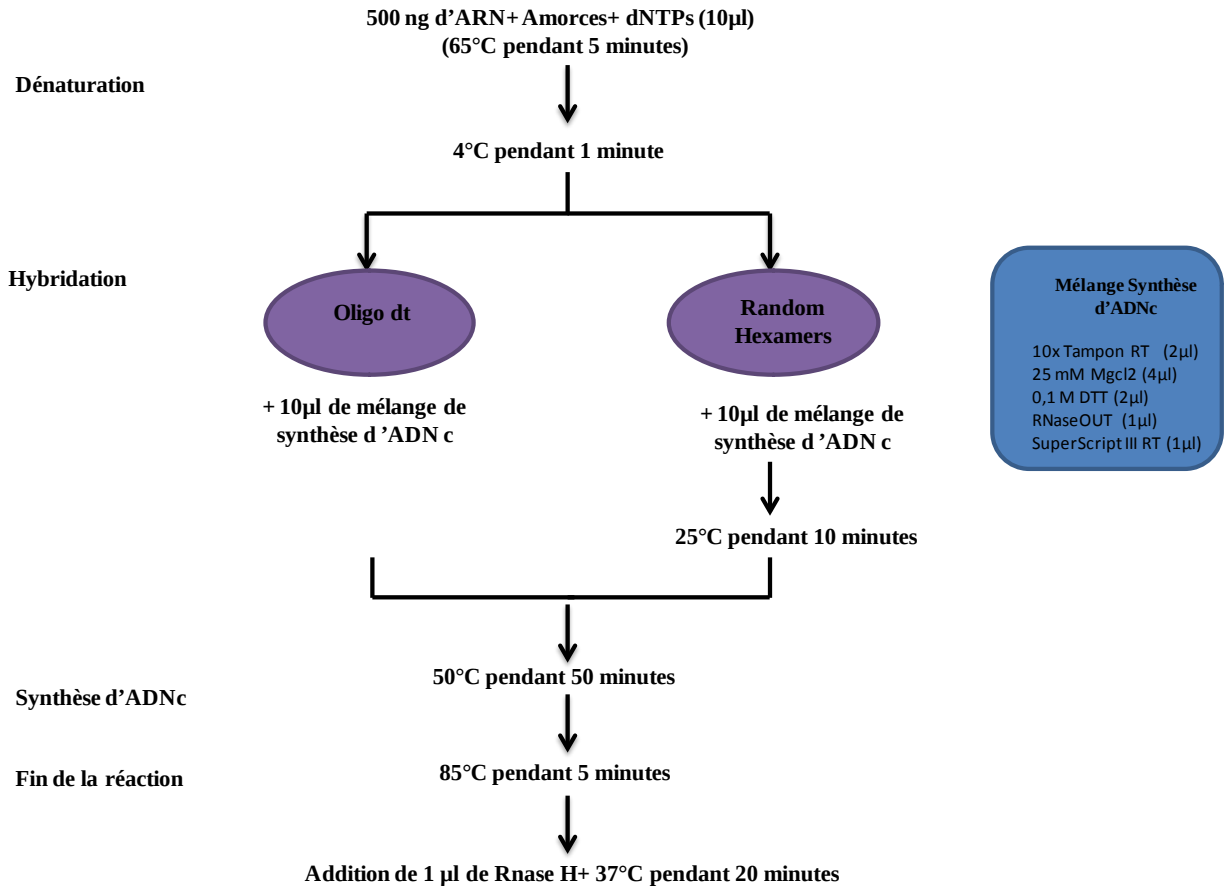

Figure 16. Procédure de RT-PCR par le kit Super ScriptIII

4. PCR (Réaction en Chaine par Polymérase)

La réaction de polymérasation en chaine réaction (PCR : Polymerase Chain Reaction) est une technique d'amplification des millions de fois d'un fragment d'ADN unique.

Afin d'amplifier la lactadhérine chez le lama et le dromadaire, un mélange préparé pour chaque espèce est illustré dans l'annexe 5.

Les différents ingrédients sont mélangés dans un tube et soumis à différents cycles de températures. La PCR se fait avec 30 cycles chaque cycle est comme suit : 95°C pendant une minute pour la dénaturation (pour désyhybrider l'ADN double brin), puis en baissant la

température à 58°C pendant une minute, les amorces s'apparient par complémentarité à leurs séquences cibles sur l'ADN. Cette étape est suivie d'une augmentation de température à 72 °C (phase d'élongation qui permet aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice à cette température qui leur est optimale). Une étape finale d'élongation est ajoutée (72 °C pendant 5 minutes).

5. Analyse des produits de PCR

Les produits de PCR sont contrôlés par une approche bio analyseur Agilent, il s'agit d'une électrophorèse capillaire sur puce ADN avec le kit Agilent DNA 7500.

Les échantillons d'ADN sont déposés dans les puits sur des puces (Agilent DNA 7500) où ils seront marqués à l'aide d'une molécule fluorescente (Dye). Sous un champ électrique, les ADN migrent dans des capillaires. Un détecteur mesure la fluorescence de l'échantillon. Elle est retranscrite sous forme de graphique exprimant l'intensité de fluorescence en fonction du temps de migration. Les ADN de petite taille migrent plus rapidement que les ADN de taille plus grande.

Chapitre III.

Résultats et Discussion

Partie I.
Caractérisation des protéines majeures du lait des camélidés

I. Introduction

Les protéines majeures du lait de dromadaire ont déjà été bien caractérisées (Kappeler, 1998 ; Alhaider et *al*., 2013). Par contre, peu de travaux sont actuellement disponibles sur le lait des petits Camélidés de l'Amérique de sud comme le lama. En effet, les travaux réalisés sur le lait de lama se sont limités à l'étude de la composition en matière grasse, en protéines, en lactose et en minéraux (Morin et *al*., 1995 (a), Rieck et Gerken, 2006).

Dans le but de mieux caractériser le lait des camélidés, nous avons utilisé les laits écrémés de dromadaire et de lama pour séparer les protéines majeures par chromatographie en phase inverse (RP-HPLC). Les fractions ont été également analysées par électrophorèse SDS-PAGE 15% et les protéines majeures ont été identifiées par l'empreinte peptidique en se basant sur les bases de données disponibles des mammifères et de « *Camelus dromedarius* ».

Nous avons ensuite adopté une approche RP-HPLC/ESI-MS afin de déterminer les masses moléculaires précises des protéines majeures des Camélidés identifiées précédemment par RP-HPLC/SDS-PAGE.

II.Résultats

1. Analyse des protéines majeures du lait des Camélidés par RP-HPLC/SDS-PAGE

1.1. Séparation et identification des protéines majeures

La séparation de l'ensemble des protéines du lait écrémé du dromadaire et du lama par chromatographie liquide en phase inverse a donné des profils d'élutions très différents (Figure 17). Le fractionnement a permis l'obtention de dix fractions notées de 1 à 10 chez le dromadaire et de neuf fractions notées de 1' à 9' chez le lama.

La séparation complète des protéines majeures du lait du dromadaire et du lama a été réalisée en environ 40 minutes.

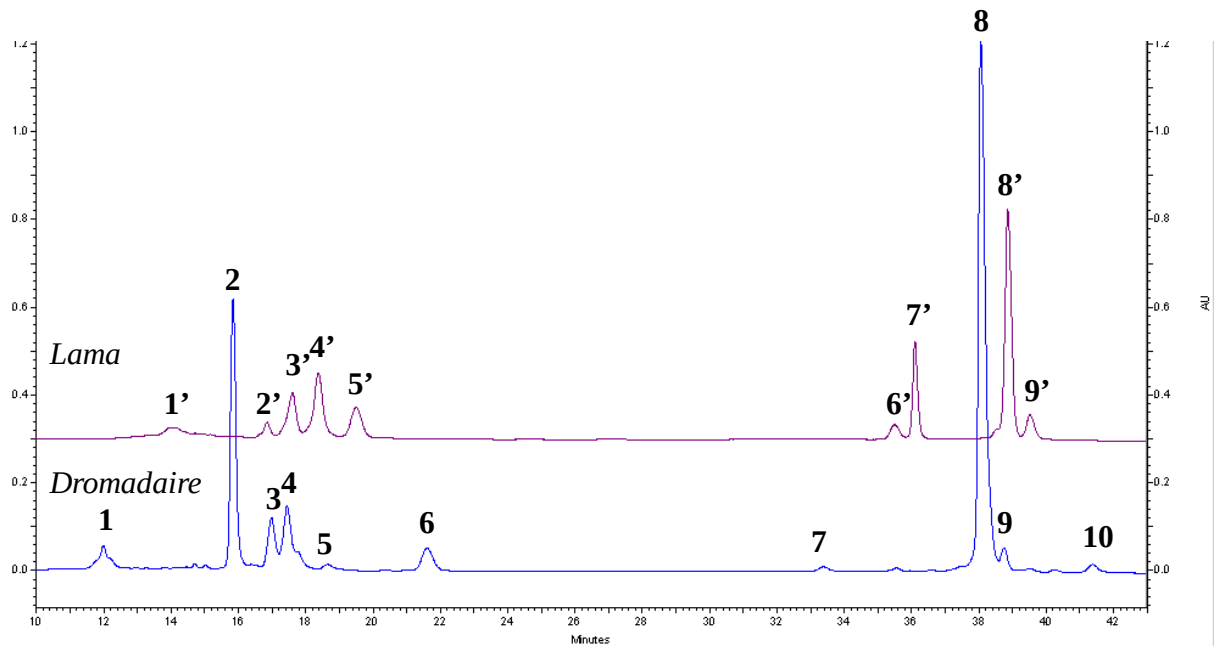

Figure 17. Profil comparatif de séparation des protéines du lait de dromadaire et de lama par RP-HPLC

Le contenu de chacune des fractions (de 1 à 10 et de 1' à 9') a été analysé par électrophorèse SDS-PAGE 15% (Figure 18). Les bandes ainsi obtenues ont été découpées et les protéines ont été soumises à l'action de la trypsine pour permettre leur identification par carte d'empreinte peptidique. Les résultats des identifications protéiques sont donnés dans le tableau 8.

Le contenu protéique du premier pic (pic 1) n'a pas pu être identifié chez le dromadaire. Il correspond toutefois très probablement à la caséine κ. Cette protéine est également éluée la première chez le lama (pic 1').

La résolution de la caséine αs_1 se fait en trois pics dont un majoritaire (pic 2) chez le dromadaire. Chez le lama, on peut noter la présence de la caséine αs1 dans quatre pics (fractions 1'-2'-3'-4'). La caséine αs_2 est retrouvée dans les fractions 3 et 4 chez le dromadaire, et dans les fractions numérotées 4' et 5' chez le lama. D'autre part, la caséine β est éluée en un seul pic majoritaire chez le lama et le dromadaire (pics 8 et 8'), mais on note la présence de la caséine β dans d'autres fractions chez le dromadaire (pics 5 et 9).

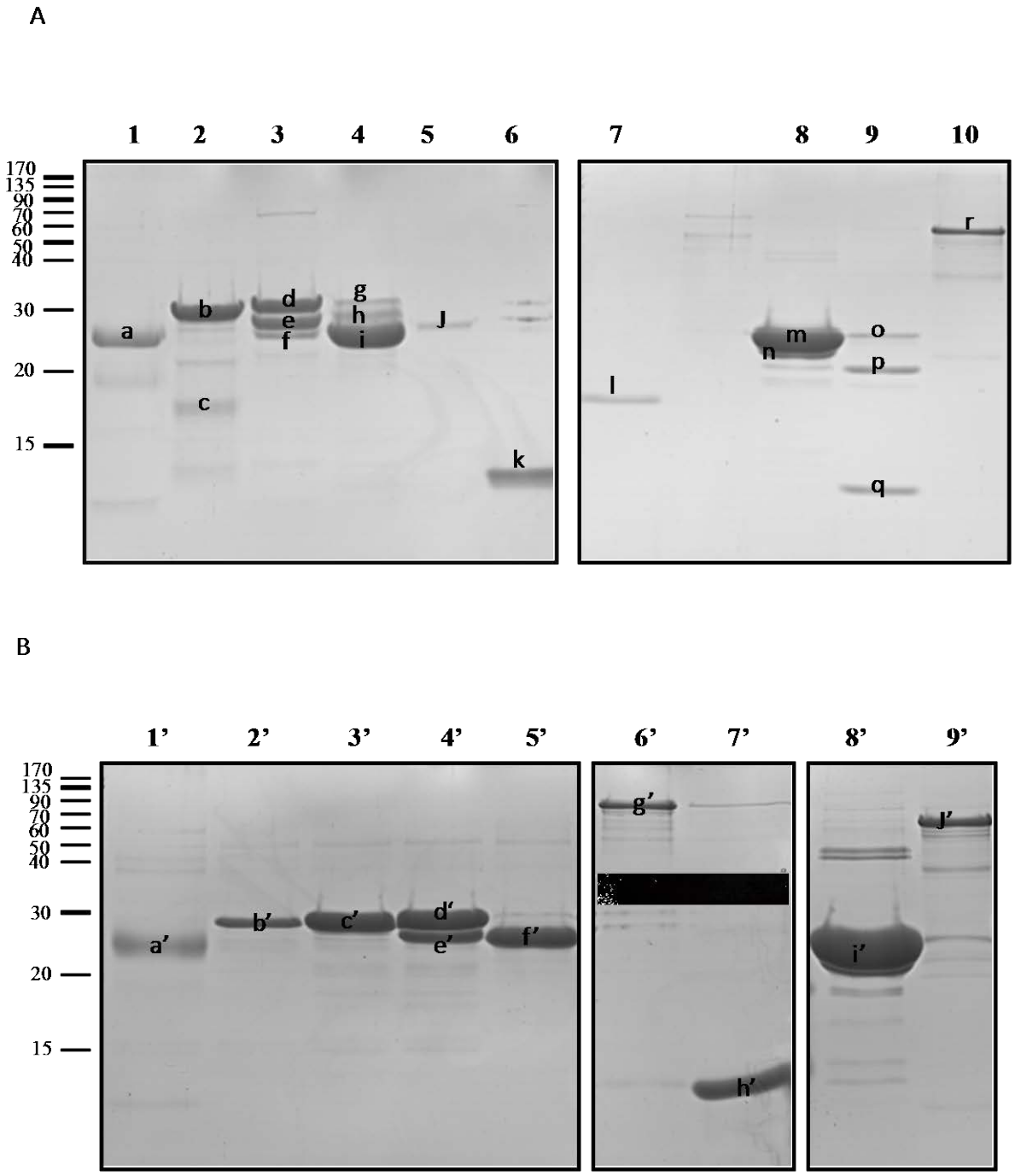

Figure 18. Séparation par SDS-PAGE 15% des fractions éluées par RP-HPLC du lait écrémé du dromadaire (A) et du lama (B)

Les masses moléculaires (en kDa) sont données à gauche des gels.

Tableau 8. Résultats d'identification des différentes fractions de lait par carte d'empreinte peptidique

Fraction HPLC	Bande SDS-PAGE	protéine Identifiée Espèce	MM Da	m/z Théorique	MH+ Observée	Delta ppm	Séquence peptidique
1	a	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	b	α-$_{s1}$ casein O97943 *Camelus dromedarius*	26862	862.3746 878.3672 955.5982 959.4921 1331.6467 1360.6481 1484.8569 1505.7482	862.3723 878.3673 955.5935 959.4945 1331.6624 1360.6703 1484.8835 1505.7747	2.57 -0.114 4.88 -2.52 -11.7 -16.3 -17.9 -17.6	(K) EDMPSQR(Y) (K)EDMPSQR(Y) (K) LLQLEAIR(D) (R) YLEELHR(L) (K) DILKEDMPSQR(Y) (R) QENIDELKDTR(N) (K) ILELAVVSPIQFR(Q) (K) LSSHPYLEQLYR(I)
	c	α-$_{s1}$ casein O97943 *Camelus dromedarius*	26862	955.5998 959.5031 1331.6632 1505.7557	955.5935 959.4945 1331.6624 1505.7747	6.61 8.97 0.599 -12.6	(K) LLQLEAIR(D) (R) YLEELHR(L) (K) DILKEDMPSQR(Y) (K) LSSHPYLEQLYR(I)
3	d	α-$_{s1}$ casein O97943 *Camelus dromedarius*	26862	862.3764 869.5306 878.3598 955.5991 959.4958 1331.6466	862.3723 869.5203 878.3673 955.5935 959.4945 1331.6624	4.71 11.8 -8.46 5.90 1.38 -11.8	(K) EDMPSQR(Y) (R) DQKLIPR(V) (K)EDMPSQR(Y) (K) LLQLEAIR(D) (R) YLEELHR(L) (K)DILKEDMPSQR(Y)
	e	α-$_{s2}$ casein O97944 *Camelus dromedarius*	22964	879.5297 913.4655 929.4598 1106.5426 1127.5500 1143.5444	879.5411 913.4778 929.4727 1106.5576 1127.5666 1143.5615	-12.9 -13.5 -13.9 -13.5 -14.7 -15.0	(K) KVAIHPSK(E) (K) ISQFYQK(W) (K) TVYQYQK(T) (K)KTELTEEEK(D) (K)TMTPWNHIK(R) (K)TMTPWNHIK(R)
	F	α-$_{s2}$ casein	22964	913.4736	913.4778	-4.56	(K) ISQFYQK(W)

		O97944 *Camelus dromedarius*		929.4664 1143.5601 1615.6418	929.4727 1143.5615 1615.6727	-6.75 -1.25 -19.1	(K) TVYQYQK(T) (K)TMTPWNHIK(R) (K)EDIC(Carbamidomethyl)STFC(Carbam domethyl)EEAVR(N)
4	g	α-$_{s1}$ casein O97943 *Camelus dromedarius*	26862	955.5923 959.4927 1505.7310	955.5935 959.4945 1505.7747	-1.22 -1.88 -29.0	(K) LLQLEAIR(D) (R) YLEELHR(L) (K) LSSHPYLEQLYR(I)
	h	α-$_{s2}$ casein O97943 *Camelus dromedaries*	26862	913.4713 929.4687 1143.5618 1615.6733	913.4778 629.4727 1143.5615 1615.6727	-7.15 -4.32 0.195 0.390	(K) ISQFYQK(W) (K) TVYQYQK(T) (K)TMTPWNHIK(R) (K)EDIC(Carbamidomethyl)STFC(Carbamidomethyl)EEAVR(N)
	i	α-$_{s2}$ casein O97944	22964	879.5344 913.4699 929.4647 1127.5551 1143.5485 1486.6622 1615.6526	879.5411 913.4778 929.4727 1127.5666 1143.5615 1486.7020 1615.6727	-7.52 -8.67 -8.63 -10.3 -11.4 -26.8 -12.4	(K) KVAIHPSK(E) (K) ISQFYQK(W) (K) TVYQYQK(T) (K) TMTPWNHIK(R) (K)TMTPWNHIK(R) (K) TELTEEEKDHQK(F) (K)EDIC(Carbamidomethyl)STFC(Carbamidomethyl)EEAVR(N)
5	j	β-casein Q9TVD0 *Camelus dromedarius*	26218	809.3967 844.5137 856.5258	809.4040 844.5073 856.5251	-9.01 7.60 0.864	(R) EKEEFK(T) (K) VLILAC(Carbamidomethyl)R(V) (K) ETIIPKR(K)
6	k	α-lactalbumin (P00710) *Camelus dromedarius*	1443	975.4475 1120.5000 1124.4583 1196.5167 1225.6053	975.4490 1120.5092 1124.4711 1196.5317 1225.6212	-1.59 -8.20 -11.3 -12.6 -13.0	(R) DNENLQSR(N) (K) LEQWQC(Carbamidomethyl)EK(W) (R)NIC(Carbamidomethyl)DISC(Carbamidomethyl)DK(F) (K) FLDDDLTDDK(M) (R) EYGLFQINNK(I)

7	l	Peptidoglycan recognition protein Q9GK12 *Camelus dromedarius*	21378	806.3808 1184.5788 1453.7050 1597.8528	806.3825 1184.5906 1453.7216 1597.8843	-2.09 -9.94 -11.5 -19.7	(R) ALASEC(Carbamidomethyl)R(E) (R) DVQPTLSPGDR(L) (R) EDPPAC(Carbamidomethyl)GSIVPRR(E) (R) AAQNLLAC(Carbamidomethyl)GVALGALR(S)
8	m	β-casein Q9TVD0 *Camelus dromedarius*	26218	856.5225 1436.8440 1651.8692	856.5251 1436.8624 1651.8989	-3.02 -12.8 -17.9	(K) ETIIPKR(K) (R) GLHPVPQPLVPVIA(-) (K) VLPVPQQMVPYPQR(A)
	n	β-casein Q9TVD0 *Camelus dromedarius*	26218	856.5248 1651.8602 1667.8505 1747.7439	856.5251 1654.8989 1667.8938 1747.7617	-0.274 -23.4 -25.9 -10.2	(K) ETIIPKR(K) (K) VLPVPQQMVPYPQR(A) (K)VLPVPQQMVPYPQR(A) (K) IEEQQQTEDEQQDK(I)
9	O	β-casein Q9TVD0 *Camelus dromedarius*	26218	844.5149 856.5181 933.5206	844.5073 856.5251 933.5074	8.94 -8.13 14.1	(K)VLILAC(Carbamidomethyl)R(V) (K) ETIIPKR(K) (K)VMDVPKTK(E)
	P	β-casein Q9TVD0 *Camelus dromedarius*	2618	856.5250 1436.8343 1651.8593 1667.8569 1747.7153	856.5251 1436.8624 1651.8989 1667.8938 1747.7617	-0.0403 -19.6 -24.0 -22.1 -26.5	(K) ETIIPKR(K) (R) GLHPVPQPLVPVIA(-) (K) VLPVPQQMVPYPQR(A) (K)VLPVPQQMVPYPQR(A) (K) IEEQQQTEDEQQDK(I)
	q	β-casein Q9TVD0 *Camelus dromedarius*	2618	856.5248 1436.8286 1651.8435 1667.8292	856.5251 1436.8624 1651.8989 1667.8938	-0.375 -23.5 -33.5 -38.7	(K) ETIIPKR(K) (R) GLHPVPQPLVPVIA(-) (K) VLPVPQQMVPYPQR(A) (K)VLPVPQQMVPYPQR(A)

10	r	Lactoferrin Q9TUM0 *Camelus dromedarius*	77212	844.5122 847.4291 1193.6057	844.4887 847.4342 1193.6048	27.8 -6.07 0.690	(K) DSALGLLR(I) (R) GPSVTC(Carbamidomethyl)VK(K) (K) DSTVFESLPAK(A)
1’	a’	κ-casein (P79139) *Camelus dromedarius*	20417	1284.7091 1560.7620	1284.6741 1560.7236	27.2578 24.6347	(K)YFPIQFVQSR(Y) (R)YPSYGINYYQHR(L)
2’	b’	αs1-casein (O97943) Camelus dromedarius	26862	959.4934 1314.7019 1360.6820	959.4945 1314.7165 1360.6703	-1.15 -11.1 8.60	(R) YLEELHR(L) (R) YLEELHRLNK(Y) (R) QENIDELKDTR(N)
3’	c’	αs1-casein (O97943) *Camelus dromedarius*	26862	862.3731 878.3499 955.5932 1331.6444 1360.6441	862.3723 878.3673 955.5935 1331.6624 1360.6703	0.852 -19.8 -0.265 -13.5 -19.2	(K) EDMPSQR(Y) (K)EDMPSQR(Y) (K) LLQLEAIR(D) (K) DILKEDMPSQR(Y) (R) QENIDELKDTR(N)
4’	d’	αs1-casein (O97943) *Camelus dromedarius*	26862	862.3804 878.3747 955.5929 1331.6372	862.3723 878.3673 955.5935 1331.6624	9.33 8.43 -0.640 -18.9	(K) EDMPSQR(Y) (K)EDMPSQR(Y) (K) LLQLEAIR(D) (K) DILKEDMPSQR(Y)
	e’	αs2-casein (O97944) *Camelus dromedarius*	22964	879.5385 913.4723 929.4667 1127.5560 1143.5457 1299.6759	879.5411 913.4778 929.4727 1127.5666 1143.5615 1299.6627	-2.92 -5.98 -6.52 -9.47 -13.8 10.2	(K) KVAIHPSK(E) (K) ISQFYQK(W) (K) TVYQYQK(T) (K) TMTPWNHIK(R) (K)TMTPWNHIK(R) (K)TMTPWNHIKR(Y)
5’	f’	αs2-casein (O97944) *Camelus dromedarius*		879.5365 913.4692 929.4624 1127.5492 1143.5457 1615.6488	879.5411 913.4778 929.4727 1127.5666 1143.5615 1615.6727	-5.16 -9.36 -11.1 -15.4 -13.9 -14.8	(K) KVAIHPSK(E) (K) ISQFYQK(W) (K) TVYQYQK(T) (K) TMTPWNHIK(R) (K)TMTPWNHIK(R) (K) EDICSTFCEEAVR(N)

6’	g’	Lactoferrin (AF165879d) *Camelus dromedarius*	77212	844.4977 848.3680 865.3630 876.4111 889.4887 929.4548 935.5425 945.4202 947.5631 948.4192 1017.5167 1073.5000 1097.4994 1325.6153 1421.6873	844.4887 848.3832 865.3621 876.4210 889.4890 929.4550 935.5421 945.4207 947.5673 948.4204 1017.5211 1073.5157 1097.5051 1325.6406 1421.7093	10.7 -17.8 0.976 -11.3 -0.328 -0.181 0.409 -0.532 -4.40 -1.25 -4.35 -14.6 -5.14 -19.1 -15.5	(K) DSALGLLR(I) (K) CAQWQR(R) (K) CQEWSR(Q) (K) NTEQWAK(D) (K) ITWNSLR(G) (K) FCLFQSK(T) (R) VPSHAVVAR(S) (K) SCHTAVDR(T) (K) GYLAVAVVR(K) (K) CVPNSSER(Y) (R) ETAAEVELR(R) (K) KSCHTAVDR(T) (R) YYGYTGAFR(C) (R) FECIQAISTEK(A) (R) CLAENVGDVAFVK(D)
7’	h’	α-lactalbumin (P00710) *Camelus dromedarius*	14431	811.4062 1120.5012 1124.4690 1225.6071	811.4131 1120.5092 1124.4711 1225.6212	-8.50 -7.10 -1.85 -11.5	(K) QFTKCK(L) (K) LEQWQCEK(W) (R) NICDISCDK(F) (R) EYGLFQINNK(I)
8’	i’	β-casein (Q9TVD0) *Camelus dromedarius*	26218	856.5266 1436.8256 1651.8477 1667.8312	856.5251 1436.8624 1651.8989 1667.8938	1.82 -25.6 -30.9 -37.5	(K) ETIIPKR(K) (R) GLHPVPQPLVPVIA(-) (K) VLPVPQQMVPYPQR(A) (K)VLPVPQQMVPYPQR(A)
9’	j’	Serum albumin (P49064) *Felis catus*	68660	898.4749 919.5035 927.4952 1075.4997 1138.5032 1149.6067 1749.6213	898.4815 919.5030 927.4934 1075.4989 1138.4980 1149.6150 1749.6625	-7.39 0.554 1.87 0.747 4.57 -7.21 -23.6	(R) LCVLHEK(T) (K) LCTVASLR(D) (K) YLYEIAR(R) (R) NECFLQHK(D) (K) CCTESLVNR(R) (K) LVNEVTEFAK(G) (K) ECCHGDLLECADDR(A)

A part les caséines, nous avons également pu identifier des protéines du lactosérum (α-lactalbumine et lactoferrine) à partir du lait écrémé. Il est intéressant de noter que les temps de rétention de ces deux protéines sont très différents chez les deux espèces. Il est à signaler que les caséines αs_1 et β sont prédominantes chez les deux espèces. Quant à la caséine κ, le pic 1' présente une faible absorbance ce qui suggère que le lait des Camélidés renferme une très faible quantité en caséine κ ou que cette protéine se colore très mal au bleu de coomassie puisqu'elle est glycosylée.

La PGRP (Peptidoglycan Recognition Protein) a pu être identifiée dans le lait camelin mais pas dans le lait de lama.

Les protéines du lait écrémé de ces deux Camélidés ont été séparées sur un gel SDS-PAGE 15% (Figure 19), les bandes ainsi obtenues (notées 1 à 19) ont été découpées et digérées à la trypsine pour identifiées par carte d'empreinte peptidique. Les résultats des identifications sont résumés dans le tableau 9.

Nous remarquons que le dromadaire et le lama présentent des profils électrophorétiques très comparables à part l'α-lactalbumine qui migre légèrement plus loin chez le lama par rapport au dromadaire, ce résultat est en accord avec ce qu'on a obtenu concernant les profils d'élution de RP-HPLC (protéine plus hydrophobe et donc éluée plus tardivement chez le lama).

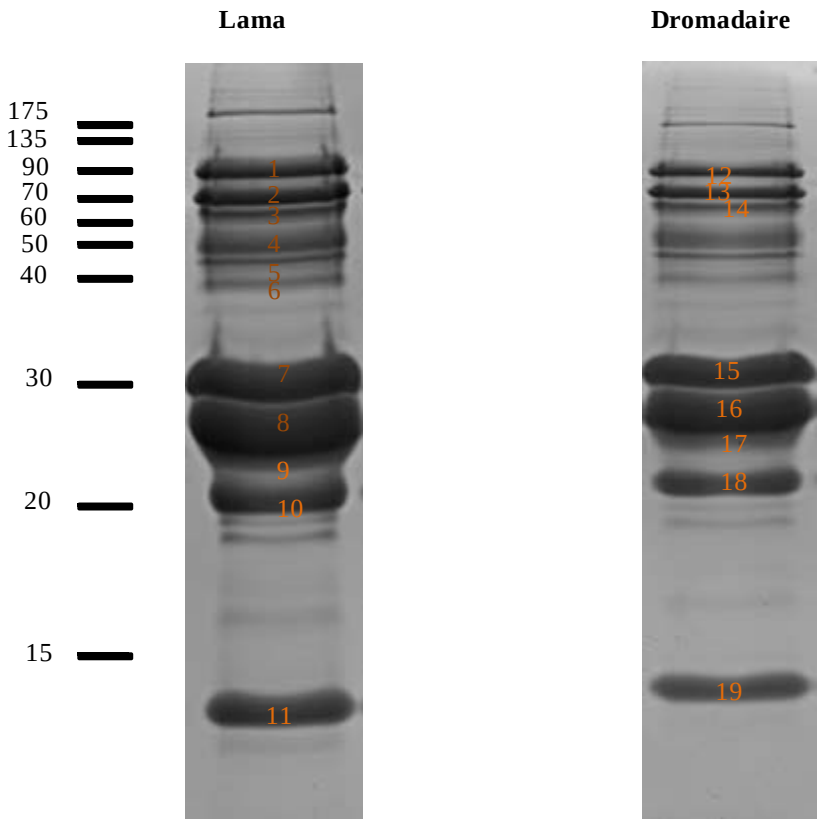

Figure 19. Fractionnement sur gel SDS-PAGE 15% des protéines du lait (1 µl) écrémé de lama (Piste à gauche) et de dromadaire (Piste à droite). Les bandes numérotées de 1 à 19 ont été découpées pour identification.

Tableau 9. Résultats des identifications des différentes bandes de SDS PAGE (Figure 23) par la carte d'empreinte peptidique.

Bande SDS-PAGE	Proteine Identifiée/ espèce	MM Da	m/z Théorique	MH+ Observée	Delta ppm	Séquence Peptidique
1	Lactoferrin Q9TUM0 *Camelus dromedarius*	77212	844.4966 848.3808 865.3686 889.4891 935.5507 945.4295 947.5780 1017.5330 1097.5242 1570.7867 1755.9493	844.4887 848.3832 865.3621 889.4890 935.5421 945.4207 947.5673 1017.5211 1097.5051 1570.7795 1755.9276	9.35 -2.78 7.50 0.0603 9.18 9.37 11.3 11.7 17.4 4.62 12.4	(K)DSALGLLRDSALGLLR(I) (K)C(Carbamidomethyl)AQWQRC(Carbamidomethyl)AQWQR(R) (K)C(Carbamidomethyl)QEWSRC(Carbamidomethyl)QEWSR(Q) (K)ITWNSLRITWNSLR(G) (R)VPSHAVVARVPSHAVVAR(S) (K)SC(Carbamidomethyl)HTAVDRSC(Carbamidomethyl)HTAVDR(T) (K)GYLAVAVVRGYLAVAVVR(K) (R)ETAAEVELRETAAEVELR(R) (R)YYGYTGAFRYYGYTGAFR(C) (R)KPVDAFQEC(Carbamidomethyl)HLARKPVDAFQEC(Carbamidomethyl)HLAR(V) (K)IDSGLYLGSNYITAIRIDSGLYLGSNYITAIR(G)
2	Lactoferrin Q9TUM0 *Camelus dromedarius*	77212	844.5109 847.4313 948.4341	844.4887 847.4342 948.4204	26.3 -3.40 14.5	(K)DSALGLLRDSALGLLR(I) (R)GPSVTC(Carbamidomethyl)VKGPSVTC(Carbamidomethyl)VK(K) (K)C(Carbamidomethyl)VPNSSERC(Carbamidomethyl)VPNSSER(Y)
3	α-$_{s2}$ casein O97944 *Camelus dromedarius*	22964	913.4662 929.4651 978.4766 1106.5780 1143.5546 1486.7488 1615.6132	913.4778 929.4727 978.4626 1106.5576 1143.5615 1486.7020 1615.6727	-12.7 -8.19 14.3 18.5 -6.05 31.5 -36.8	(K)ISQFYQKISQFYQK(W) (K)TVYQYQKTVYQYQK(T) (K)TELTEEEKTELTEEEK(D) (K)KTELTEEEKKTELTEEEK(D) (K)TMTPWNHIK(R) (K)TELTEEEKDHQKTELTEEEKDHQK(F) (K)EDIC(Carbamidomethyl)STFC(Carbamidomethyl)EEAVREDIC(Carbamidomethyl)STFC(Carbamidomethyl)EEAVR(N)
4	milk fat globule EGF factor 8 AEA76431 *Camelus dromedarius*	32787	993.5665 1015.5764 1074.5883 1439.6838 1583.7062 1704.8812	993.5662 1015.5895 1074.5902 1439.7066 1583.7449 1704.9319	0.262 -12.8 -1.73 -15.9 -24.4 -29.8	(R) LVPVIC(Carbamidomethyl)HR(G) (R) VTGIITQGAR(D) (R) VTGVVTQGASR(A) (R) DFGHIQYVAAYR(V) (R) TGIVNAWTSSNYDR(N) (K) VNLFDIPLEVQYVR(L)
5	milk fat	32787	838.4287	838.4305	-2.10	(R)AGSAEYLKAGSAEYLK(T)

	globule EGF factor 8 AEA76431 (Genbank) *Camelus dromedarius*		866.4376 993.5697 1015.5849 1074.5826 1439.6805	866.4367 993.5662 1015.5895 1074.5902 1439.7066	1.12 3.44 -4.54 -7.07 -18.1	(R)VAYSVDGRVAYSVDGR(K) (R)LVPVIC(Carbamidomethyl)HRLVPVIC(Carbamidomethyl)HR(G) (R)VTGIITQGARVTGIITQGAR(D) (R)VTGVVTQGASRVTGVVTQGASR(A) (R)DFGHIQYVAAYRDFGHIQYVAAYR(V)
6	α-$_{s1}$ casein O97943 *Camelus dromedarius*	26862	862.3676 878.3873 988.5108	862.3723 878.3673 988.4946	-5.46 22.8 16.5	(K)EDMPSQREDMPSQR(Y) (K)EDMPSQR(Y) (R)QENIDELKQENIDELK(D)
7	casein *Camelus dromedarius*	25844	862.3857 878.3951 955.5962 1331.6569 1347.6388 1360.6581 1484.8689 1505.7526 1589.7666 1715.6827 1731.6892	862.3723 878.3673 955.5935 1331.6624 1347.6573 1360.6703 1484.8835 1505.7747 1589.7918 1715.7177 1731.7126	15.5 31.7 2.87 -4.13 -13.7 -8.98 -9.85 -14.7 -15.9 -20.4 -13.5	(K) EDMPSQR(Y) (K)EDMPSQR(Y) (K) LLQLEAIR(D) (K) DILKEDMPSQR(Y) (K)DILKEDMPSQR(Y) (R) QENIDELKDTR(N) (K) ILELAVVSPIQFR(Q) (K) LSSHPYLEQLYR(I) (R) INEDNHPQLGEPVK(V) (R) NEPTEDHIMEDTER(K) (R)NEPTEDHIMEDTER(K)
8	α-$_{s2}$ casein O97944 *Camelus dromedarius*	22964	913.4789 929.4695 1615.6481	913.4778 929.4727 1615.6727	1.20 -3.51 -15.2	(K) ISQFYQK(W) (K) TVYQYQK(T) (K) EDIC(Carbamidomethyl)STFC(Carbamidomethyl)EEAVR(N)
9	β-casein (Q9TVD0) *Camelus dromedarius*	26218	844.5151 856.5228 929.5688	844.5073 856.5251 929.5666	9.17 -2.68 2.33	(K)VLILAC(Carbamidomethyl)RVLILAC(Carbamidomethyl)R(V) (K)ETIIPKRETIIPKR(K) (K)TKETIIPKTKETIIPK(R)
10	Lactophorin CAB53389 (GenBank) *Camelus dromedarius*	15511	839.4940 865.4244 877.4157 883.4221 893.4195 1021.5342 1409.7627 1438.7675	839.4985 865.4275 877.4196 883.4230 893.4145 1021.5286 1409.7536 1438.7689	-5.45 -3.61 -4.50 -1.03 5.54 5.46 6.46 -0.957	(K) LVELTHK(I) (R) HQNQNPK(L) (K) NLENTMR(E) (R) ETMDFLK(S) (K)NLENTMR(E) (R) RHQNQNPK(L) (K) LLHPVPQESSFR(N) (K) SLFPHASEVVKPQ(-)
11	α-lactalbumin CAA07693	10511	1124.4672 1225.6084	1124.4711 1225.6212	-3.41 -10.4	(R) NIC(Carbamidomethyl)DISC(Carbamidomethyl)DK(F) (R) EYGLFQINNK(I)

	Lama guanicoe		1547.7040	1547.7271	-14.9	(K) IWC(Carbamidomethyl)IDNENLQSR(N)
12	Lactoferrin Q9TUM0 *Camelus dromedarius*	77212	847.4235 848.3763 865.3770 887.4270 935.5458 945.4149 947.5749 1017.5244 1097.5044 1102.5890	847.4342 848.3832 865.3621 887.4152 935.5421 945.4207 947.5673 1017.5211 1097.5051 1102.6037	-12.6 -8.08 17.2 13.2 3.98 -6.15 8.06 3.20 -0.616 -13.3	(R) GPSVTC(Carbamidomethyl)VK(K) (K) C(Carbamidomethyl)AQWQR(R) (K) C(Carbamidomethyl)QEWSR(Q) (K) SC(Carbamidomethyl)HTGLGR(S) (R) VPSHAVVAR(S) (K) SC(Carbamidomethyl)HTAVDR(T) (K) GYLAVAVVR(K) (R) ETAAEVELR(R) (R) YYGYTGAFR(C) (K) VRGPSVTC(Carbamidomethyl)VK(K)
13	Lactoferrin Q9TUM0 *Camelus dromedarius*	77212	847.4280 1017.5322 1193.5850	847.4342 1017.5211 1193.6048	-7.28 10.9 -16.6	(R) GPSVTC(Carbamidomethyl)VK(K) (R) ETAAEVELR(R) (K) DSTVFESLPAK(A)
14	α-$_{s2}$ casein O97944 *Camelus dromedarius*	22964	913.4708 929.4570 1486.6761	913.4778 929.4727 1486.7020	-7.63 -16.9 -17.4	(K) ISQFYQK(W) (K) TVYQYQK(T) (K) TELTEEEKDHQK(F)
15	α-$_{s1}$ casein O97943 *Camelus dromedarius*	26862	862.3799 869.5329 878.3844 955.5907 959.4910 1314.7080 1347.6339	862.3723 869.5203 878.3673 955.5935 959.4945 1314.7165 1347.6573	8.74 14.5 19.6 -2.90 -3.62 -6.41 -17.4	(K) EDMPSQR(Y) (R) DQKLIPR(V) (K)EDMPSQR(Y) (K) LLQLEAIR(D) (R) YLEELHR(L) (R) YLEELHRLNK(Y) (K)DILKEDMPSQR(Y)
16	β-casein (Q9TVD0) *Camelus dromedarius*	26218	856.5215 1436.8225 1651.8447 1667.8371 1747.6939	856.5251 1436.8624 1651.8989 1667.8938 1747.7617	-4.15 -27.8 -32.8 -34.0 -38.8	(K) ETIIPKR(K) (R) GLHPVPQPLVPVIA(-) (K) VLPVPQQMVPYPQR(A) (K)VLPVPQQMVPYPQR(A) (K) IEEQQQTEDEQQDK(I)
17	α-$_{s2}$ casein O97944 *Camelus dromedarius*	22964	913.4702 929.4670 1143.5396 1615.6692	913.4778 929.4727 1143.5615 1615.6727	-8.28 -6.18 -19.2 -2.15	(K) ISQFYQK(W) (K) TVYQYQK(T) (K)TMTPWNHIK(R) (K) EDIC(Carbamidomethyl)STFC(Carbamidomethyl)EEAVR(N)

18	Lactophorin CAB53389 (GenBank) *Camelus dromedarius*	15511	839.4971 865.4439 877.4270 893.4183 1021.5252 1409.7123	839.4985 865.4275 877.4196 893.4145 1021.5286 1409.7536	-1.69 18.9 8.45 4.23 -3.29 -29.3	(K) LVELTHK(I) (R) HQNQNPK(L) (K) NLENTMR(E) (K)NLENTMR(E) (R) RHQNQNPK(L) (K) LLHPVPQESSFR(N)
19	α-lactalbumin P00710 *Camelus dromedarius*	14431	975.4477 1120.5054 1124.4744 1196.5212 1225.6005	975.4490 1120.5092 1124.4711 1196.5317 1225.6212	-1.37 -3.34 3.00 -8.80 -16.9	(R) DNENLQSR(N) (K) LEQWQC(Carbamidomethyl)EK(W) (R) NIC(Carbamidomethyl)DISC(Carbamidomethyl)DK(F) (K) FLDDDLTDDK(M) (R) EYGLFQINNK(I)

1.2. Quantification des protéines éluées

Les laits écrémés de quatre individus de lama (même stade de lactation) et dix individus de dromadaire (de quatre stades de lactation différents de 50 à 230 jours) ont été utilisés afin de quantifier les protéines majeures chez ces deux espèces en utilisant le logiciel 32 Karat de Beckman Coulter. La quantification des protéines totales a été obtenue en intégrant la surface de tous les pics du chromatogramme. Les proportions relatives des protéines ont été obtenues en rapportant l'aire de chaque pic à l'aire totale du profil chromatographique dans chaque espèce. Il est à noter que le lait de lama est beaucoup plus riche en protéines par rapport à celui de dromadaire (Figure 20), ce qui est en accord avec les études précédemment publiées sur le lait de ce Camélidé (Medhammar et *al*., 2012).

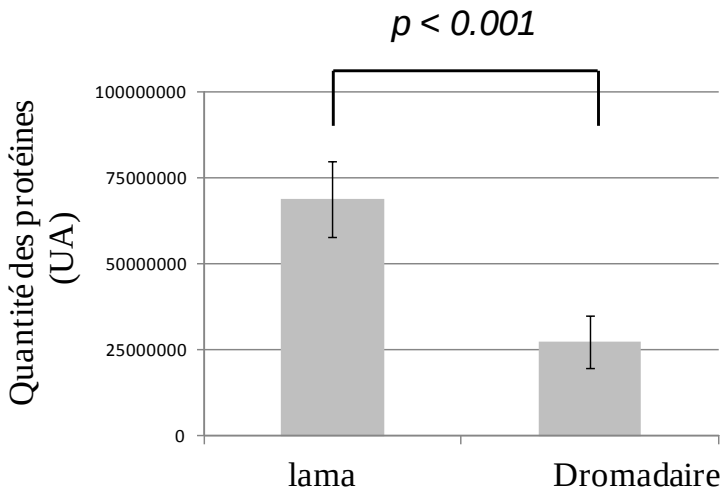

Figure 20. Quantification des protéines majeures du lait chez les Camélidés (quatre lamas « 150 jours de lactation » et dix dromadaires « 50, 55, 76, 140, 145, 150 et 230 jours de lactation »).

Les quantifications relatives de chaque protéine éluée sont résumées dans le tableau 10.

Tableau 10. Quantification relative des principales protéines éluées par RP-HPLC

Fraction Protéique	Moyenne ± Ecart-Type (%)	
	Lama (n=4)	Dromadaire (n=9)
κ-caséine	2,62 ± 0,57	4,39 ± 0,27
α-caséine	40,54 ± 5,14	35,25 ± 1,93
β-caséine	47,95 ± 6,69	46,92 ± 2,91
lactoferrine	0,96 ± 3,17	1,19 ± 0,22
α-lactabumine	5,51 ± 2,59	5,34 ± 0,70
Sérum-albumine	1,48 ± 1,37	ND
Autres	1,40 ± 0,90	6,86 ± 2,35

2. Analyse des protéines majeures du lait des Camélidés par RP-HPLC/ESI-MS

Afin de déterminer les masses moléculaires précises des caséines du lait de lama et de dromadaire identifiées précédemment, nous avons utilisé la technique de couplage de RP-HPLC avec l'ESI-MS et les profils obtenus sont présentés dans la figure 21.

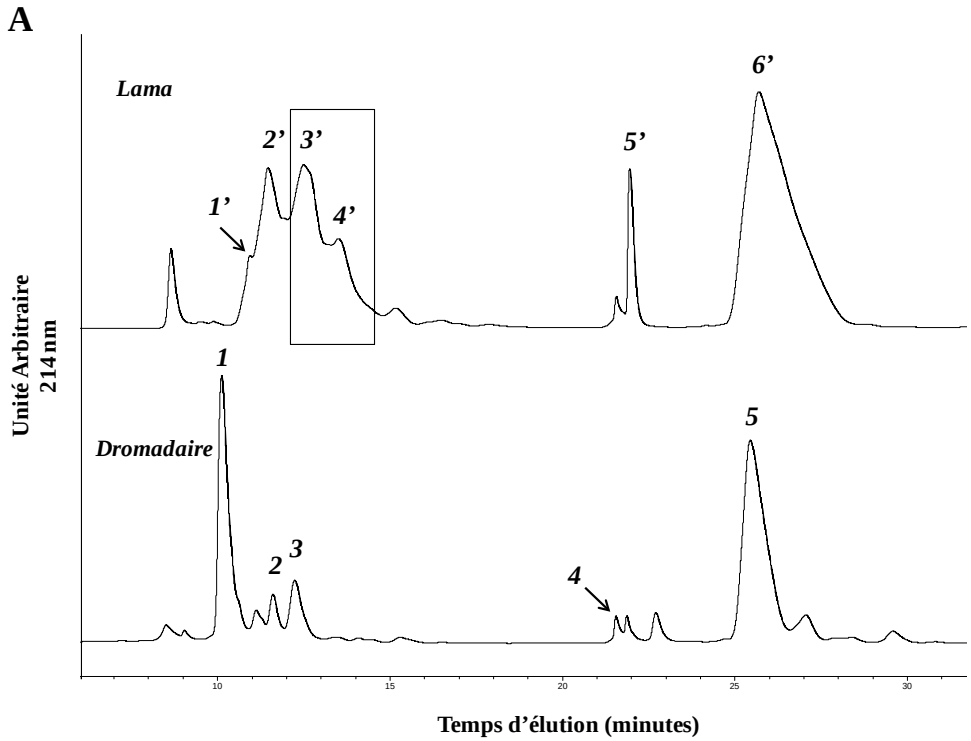

Figure 21. Profil d'analyse des protéines du lait de lama et de dromadaire par la technique de RP-HPLC/ESI-MS.

Les composés majeurs du lait de dromadaire sont caractérisés en se basant sur les masses théoriques des protéines matures de « *Camelus dromedarius* » disponibles sur la base de données d'Uniprot. Les masses moléculaires des protéines éluées (pics 1 à 5 et pics 1' à 6') sont indiqués dans le tableau 11 (A et B). Les profils chromatographiques sont similaires à ceux observés par la première méthode utilisée (RP-HPLC/SDS-PAGE) mais la séparation des protéines est effectuée en moins de 30 minutes.

Tableau 11. Résultats de la détermination des masses moléculaires des protéines du lait des Camélidés par ESI-MS.

A : Détermination des masses moléculaires des protéines du lait du dromadaire par LC/ESI-MS.

Numéro du pic	Protéine identifié	Accession Uniprot KB	Masse observée (Da)	Masse théorique (Da)	Delta ppm
1	αs1-casein, isoforme courte, 6P*	O97943-2	24 769, 29	24 769, 12	+7,1
	αs1-casein, isoforme courte, 6P, variant d'épissage**	-	24 641, 13	24 640, 98	+6,1
	αs1- casein, isoforme courte, 5P	O97943-2	24 689, 48	24 689, 14	+14,0
	αs1- casein, isoforme courte, 5P, variant d'épissage**	-	24 561, 47	24 561, 01	+18,9
	αs1- casein, isoforme courte, 7P	O97943-2	24 849, 22	24 849, 09	+5,0
	αs1- casein, isoforme courte, 7P, variant d'épissage**	-	24 721, 65	24 720, 96	+28,2
2	αs1-casein, isoforme longue, 6P	O97943-1	25 787, 25	25 787, 21	+1,7
	αs1- casein, isoforme longue, 6P, variant d'épissage**	-	25 659, 03	25 659, 08	-1,9
	αs1- casein, isoforme longue, 5P	O97943-1	25 707, 04	25 707, 23	-7,3
	αs2- casein, 10P	O97944	22 065, 86	22 065, 69	+7,4
3	α- lactalbumin	P00710	14 430, 25	14 430, 35	-7,4
4	Peptidoglycan recognition Protein 1	Q9GK12	19 143, 36	19 143, 64	-14,6
5	β- casein, 4P	Q9TVD0	24 971, 03	24 970, 68	+13,8
	β- casein, 4P, variant d'épissage**	-	24 842, 64	24 842, 55	+3,5
	β- casein, 3P	Q9TVD0	24 890, 87	24 890, 70	+6,8
	β- casein, 2P	Q9TVD0	24 811,47	24 811, 70	-9,5

B : Détermination des masses moléculaires des protéines du lait du lama par LC/ESI-MS.

Numéro du pic	Protéine identifié	Masse observée (Da)
1’	αs1- casein, isoforme courte A	24 565, 99± 0,42 (n=2)
2’	αs1-casein, isoforme longue A	25 585, 23 ± 0, 23 (n=2)
3’	αs1- casein, isoforme longue B αs2- casein	25 630, 39± 0,18 (n=4) 22 906, 10 ± 0,16 (n=4)
4’	αs1- casein, isoforme longue B, +1 P* αs2- casein -1 P*	25 709, 94 ± 0,44 (n=4) 22 825, 98 ± 0,26 (n=4)
5’	α- lactalbumine	14314, 17 ± 0,04 (n=4)
6’	β- casein β- casein, variant d’épissage** β- casein, -1 P* β- casein -1 P* variant d’épissage** β- casein, -2 P* β- casein -2 P* variant d’épissage** β- casein, -3 P* β- casein - 4 P*	24 970, 88 (n=1) 24 842, 62± 0,10 (n=4) 24 890, 91 ± 0,11 (n=4) 24 763, 92 ± 1,15 (n=2) 24 811, 48 ± 0,58 (n=3) 24 682, 66 (n=1) 24 731, 05 ± 0,22 (n=2) 24 651, 35 (n=1)

* : groupement phosphate.

** : Masse moléculaire correspondant au variant protéique, produit de l’utilisation d’un site cryptique d'épissage et conduisant à la suppression d'un triplet de nucléotides codant pour un résidu de glutamine (-128 Da) (Matéos et *al*., 2010).

2.1. Détermination des masses moléculaires des protéines majeures du lait de dromadaire

Les modifications post-traductionnelles des protéines du lait sont essentiellement des phosphorylations (différence de masse de ± 79,98 Da pour une même protéine identifiée). Le variant d’épissage présente une différence de masse de 128 Da. Cet épissage est issu d’une délétion d’un codon spécifiant un résidu de glutamine. Ce phénomène se produit souvent en début d’exon, car la séquence nucléotidique codant pour le résidu de glutamine (triplet CAG) est confondue avec un site d’épissage (site accepteur).

La caséine αs_1 a été éluée dans trois pics dans le chromatogramme du RP-HPLC (fractions 1-2-3). Par le couplage du RP-HPLC à l’ESI-MS, nous avons réussi à identifier dans le pic majoritaire (pic 1) six isoformes courtes de la caséine αs_1 avec différents niveaux de phosphorylation (5, 6 et 7 phosphates). Des formes résultantes de l’usage d’un site cryptique d’épissage ont également pu être observées. Une masse moléculaire de 22 065,86 Da a pu

être observée chez le dromadaire (Figure 21, pic 2). Elle correspond à une protéine portant dix groupements phosphate. Dans le pic 5, nous avons identifié la caséine β avec quatre, trois et deux résidus de phosphate correspondant à des masses moléculaires de 24 971,03; 24 890, 87 et 24 811,47 Da respectivement. Une forme résultante de l’usage d’un

site cryptique d'épissage et portant quatre résidus de phosphate a pu être également identifiée (masse moléculaire de 24 842, 64 Da). En effet, l'usage d'un site cryptique d'épissage conduit à la délétion d'un triplet de nucléotides codant pour un résidu de glutamine et aboutit à une perte de masse de 128 Da.

Deux protéines du lactosérum ont été identifiées avec une masse de 14 430,25 pour l'α-lactalbumine (Figure 21 pic 3) et une masse de 19143,36 pour la PGRP (Figure 21 pic 4).

2.2. Détermination des masses moléculaires des protéines du lait de lama

Le génome du lama n'étant pas encore séquencé, les valeurs théoriques des masses moléculaires des protéines du lait de lama (obtenues à partir des séquences primaires des protéines) ne sont pas encore disponibles. Toutefois, étant donné que nous avions pu identifier les protéines majeures du lait de lama par l'approche RP-HPLC/SDS-PAGE, nous avons pu attribuer les masses moléculaires observées aux protéines majeures du lait de lama éluées au cours de la chromatographie et précédemment identifiées par empreinte peptidique. Parmi les quatre lamas analysés, nous avons pu identifier deux variants pour la caséine αs_1 nommées A et B et correspondant à des masses moléculaires de 25585,23 Da ± 0,32 et de 25630,30 Da ± 0,18, respectivement. En outre, une isoforme courte du variant A de l'αs1 caséine a également pu être observée (24565,99 Da ±0,42).

Sur la base des travaux réalisés par RP-HPLC/SDS-PAGE, une masse moléculaire de 22906,10 Da a pu être observée pour l'αs2-caséine (Figure 21, pic 3'). Une masse moléculaire correspondant à la perte d'un groupement phosphate (-80 Da environ) a également pu être attribuée à cette protéine (22825,98 Da). La caséine β a été identifiée avec une masse de 24970,88 Da. Cette protéine a été observée avec différents niveaux de phosphorylations (pic 6'). Une masse moléculaire de 24 842,62 Da ± 0,10 correspondant au variant d'épissage de la caséine β portant quatre groupements phosphate a été retrouvée chez les quatre lamas analysés (Tableau 11, B).

Une masse moléculaire de 14314,17 Da a été observée pour l'α-lactalbumine. Cette masse est inférieure de 116 Da à la masse de l'α-lactalbumine de dromadaire (14430,25 Da).

III. Discussion

1. Analyse comparative des protéines majeures du lait des Camélidés identifiées par RP-HPLC/SDS-PAGE

Les protéines majeures du lait écrémé de dromadaire et de lama ont été séparées par RP-HPLC. Les quatre caséines et certaines protéines du lactosérum (α-lactalbumine, lactoferrine) ont été éluées en 42 minutes avec une haute résolution. Cette même technique a été utilisée pour séparer les caséines du lait de dromadaire après précipitation acide en 60 minutes (Kappeler, 1998). Cependant, la PGRP n'avait pas pu être identifiée précédemment par cette approche en chromatographie de phase inverse. Ce même auteur a réussi à isoler cette protéine par chromatographie héparine - sepharose (Kappeler et *al*., 2004).

Nos résultats ont permis d'éluer la PGRP (Pic 7, Figure 17) chez le dromadaire. Le dromadaire est la première espèce où la PGRP est trouvée secrétée dans le lait. La WAP (Whey Acidic Protein) et la CWBP (Camel Whey Basic Protein) n'ont été identifiées ni chez le dromadaire ni chez le lama, cela pourrait être expliqué par leur faible concentration dans le lait.

La caséine αs_1 est présente dans plusieurs pics chromatographiques chez les deux espèces de Camélidés étudiées. Ces différents temps de rétention laissent suggérer l'existence d'un polymorphisme chez cette protéine. En effet, à part la caséine αs_1 A et B déjà décrites par Kappeler et *al*., 1998, une étude récente (Shuiep et *al*., 2013) a permis d'identifier une troisième isoforme : la caséine αs_1 C.

La caséine β est une protéine majeure très abondante chez les Camélidés, elle est éluée en un seul pic majoritaire chez le lama et le dromadaire. La β-lactoglobuline, une protéine majeure du lait des ruminants, est apparemment absente dans le lait de Camélidés. Son absence chez le lait de dromadaire a été rapportée par Kappeler et *al*., (2003). Elle est aussi absente chez le lait humain (Morin et *al*., 1995 (b); Kappeler et *al*., 1998).

La sérum albumine est éluée à la fin chez le lama, elle pourrait être associée au pic de la caséine β chez le dromadaire.

2. Détermination des masses moléculaires précises des protéines majeures du lait de Camélidés identifiées par RP-HPLC/ESI-MS

A ce jour, aucune donnée n'est disponible sur les séquences des lactoprotéines lamines. Cependant, un assemblage préliminaire du génome de l'alpaga (*Vicugna pacos*) appartenant à la famille des Camélidés a été récemment mis en ligne

(http://www.ensembl.org/Vicugna_pacos/). Les séquences des gènes spécifiant certaines caséines sont maintenant disponibles pour cette espèce :

- caséine αs1 (ENSVPAG00000004344)
- caséine β (ENSVPAG00000004350)
- Et caséine κ (ENSVPAG00000003971)

Toutefois, l'annotation systématique de ces gènes en prenant comme référence le génome humain peut conduire à des erreurs d'annotation. En effet, l'alignement de la séquence d'acides aminés de la caséine β chez 11 espèces suggère l'épissage constitutif de l'exon 3 de la β-caséine humaine (Martin et Leroux., 1992). Par conséquent, étant donné que le génome humain est utilisé comme référence pour l'annotation du génome de l'alpaga, la séquence putative codée par l'exon 3 de la caséine β est également absente chez l'alpaga. De plus, une séquence exonique correspondant au nonapeptide KEEFKTAGE codé par l'exon 3 chez *Camelus dromedarius* peut être retrouvée facilement 130 pb environ en amont de la séquence génomique ENSVPAG00000004350 (Saadaoui et *al*, sous presse).

En revanche, notre travail a permis d'identifier les protéines majeures du lait du lama et de déterminer leurs masses moléculaires précises.

Les isoformes longue et courte de la caséine αs1 de lama ont été déterminées avec des masses moléculaires de 25 585,23 et 24 565,99 Da respectivement, ce qui suggère que la masse moléculaire de la séquence épissée chez la forme courte est d'environ 1038 Da.

Cette masse est proche de la masse du peptide EQAYFHLE issu de l'épissage de l'exon 16 de la caséine αs1 du dromadaire.

Ces données suggèrent une grande homologie de séquence entre les exons épissés dans les formes courtes de la caséine α-s1 chez les deux espèces. Par ailleurs, en comparant les profils chromatographiques des protéines du lait du lama et du dromadaire, nous remarquons que la forme courte de l'α-s1caséine est la principale iso forme exprimée dans le lait de dromadaire alors que dans le lait de lama, l'iso forme longue est l'iso forme prédominante de la caséine αs1.

Les masses moléculaires comparables de la caséine β du lait du lama (24 842,62 ; 24 890,91 et 24 811,47 Da) et du dromadaire (24 842,64 ; 24 890,87 et 24 811,47 Da) suggère une grande homologie de séquence chez ces deux espèces.

L'ion le plus intense détecté par RP-HPLC/ESI-MS pour le lait écrémé de dromadaire a été attribué à l'iso forme de la caséine β portant quatre résidus de phosphate. Par contre,

Kappeler et *al.*, 1998 ont montré que l'iso forme de la caséine β à trois groupements phosphate est la forme la plus fréquente.

En effet, les masses moléculaires pour d'autres iso formes de la caséine β ont été obtenues avec différents degrés de phosphorylation (Tableau 11).

Comme chez le dromadaire, les masses moléculaires correspondantes à des variants d'épissage cryptique résultant de la suppression d'un triplet de nucléotides codant pour un résidu de glutamine d'une masse de 128 Da ont été également caractérisées. Ce phénomène peut être dû aux erreurs de la machinerie d'épissage. Ce même phénomène a été déjà observé chez d'autres espèces telles que la jument (Mateos et *al*., 2010). L'étude de Martin el *al*. (2013) montrant la présence d'un résidu glutamine au début de l'exon 6 du gène de la caséine β chez le dromadaire soutient notre hypothèse.

Une différence remarquable a été observée au niveau de la taille de la caséine αs_2 chez les deux Camélidés étudiés, Une masse moléculaire de 22 906,10 Da correspond à l'iso forme principale de la caséine αs_2 du lait de lama, alors qu'une masse moléculaire de 22 065,86 Da a été observée chez le dromadaire, l'iso forme avec dix groupes phosphate étant l'iso forme principale détectée par LC- ESI-MS du lait camelin.

L'analyse de la séquence d'acides aminés de la caséine αs_2 du dromadaire a permis de conclure à la présence de seulement neuf motifs de phosphorylation sur l'acide aminé « sérine » (Kappeler et *al*., 1998). Cependant, la phosphorylation peut avoir lieu sur les résidus thréonine (séquences tripeptidiques Thr-X-A, où X représente un résidu d'acide aminé et A représente un résidu acide) (Mercier, 1981). En utilisant le serveur prédictif NetPhos disponible sur le site de bioinformatique Expasy (http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/), nous pouvons montrer une probabilité de phosphorylation sur des résidus de thréonine à différentes positions : Thr_{39} (P=0.726), Thr_{114} (P=0.949), Thr_{126} (P=0.534) et Thr_{132} (P=0.932). L'alignement de la séquence de la caséine αs2 chez dix espèces de mammifères révèle que plusieurs séquences exoniques sont épissées de façon constitutive chez le dromadaire (exons 8, 10 et 13) (Martin et *al*, 2013). Cela suggère que la différence de taille pour la caséine αs_2 de lama de 840 Da correspond à une séquence exonique qui serait épissée chez le dromadaire, mais pas chez le lama.

3. Composition en lactoprotéines des Camélidés

L'analyse semi-quantitative des protéines du lait des Camélidés (rapport entre la surface de chaque pic chromatographique et l'aire totale du profil chromatographique de HPLC) a montré que le lait de lama est beaucoup plus riche en protéines que celui de

dromadaire. Cette richesse n'est pas liée au stade de lactation puisque nous avons déterminé la teneur protéique du lait de dromadaire à différents stades de lactation (de 50 à 230 jours).

Il a été démontré que la teneur moyenne en protéine du lait de lama est de 4,23±0,02 % qui est beaucoup plus élevée que celle du lait de dromadaire qui est de 3,03±0,76% (Konuspayeva et *al*., 2009, Medhammar et *al*., 2012 et Rieck et Gerken 2006), ce qui confirme nos observations préliminaires.

IV. Conclusion

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés en premier lieu à l'identification des protéines majeures du lait de dromadaire par RP-HPLC. Cet outil a permis d'obtenir une bonne résolution chromatographique séparant les différentes isoformes de la caséine αs_1 et éluant la PGRP, protéine cameline du lactosérum. Par comparaison avec le lait de dromadaire, le lait de lama montre une différence significative au niveau de la teneur des protéines, et l'ordre d'élution chromatographique de quelques protéines comme l'α-lactalbumine qui varie entre les deux espèces, ce qui suggère une grande différence d'hydrophobicité entre les protéines. Il a été remarqué que la β-lactoglobuline, protéine majeure du lait, est absente chez le dromadaire et le lama.

Le deuxième objectif atteint de cette partie était d'identifier et de déterminer pour la première fois les masses moléculaires précises des protéines du lait écrémé du dromadaire et du lama, par l'approche protéomique RP-HPLC/ESI-MS.

Partie II.
Caractérisation des protéines du lactosérum du lait des Camélidés

I. Introduction

Les protéines du lactosérum représentent la fraction qui renferme les protéines les plus adaptées à la nutrition humaine. Elles sont des protéines de référence valorisées par les recherches pour le développement et la production (Chobert et *al*., 1997 ; Michaelidou et *al*., 2006).

Le lactosérum de dromadaire est riche en protéines antibactériennes telles que le lysozyme, la lactoferrine, les immunoglobulines (Elagamy et *al*., 1992), la WAP (Beg et *al*., 1986) et la WBP (Ochirkhuyag et *al*., 1998). Les données de la littérature concernant la composition protéique du lactosérum de dromadaire sont très insuffisantes. Il en est de même pour le lama (Cantisani et *al*., 1990 ; Fernandez et Olivier, 1992).

Ainsi, dans cette partie, l'objectif du travail était de caractériser les protéines du lactosérum des Camélidés par des outils de protéomique. Dans un premier temps, nous avons comparé la composition en protéines solubles du lait de dromadaire et de lama en utilisant la technique de RP-HPLC/ESI-MS. L'α-lactalbumine qui présente des différences chez le lama et le dromadaire a fait l'objet d'une analyse par séquençage *de novo*.

Dans la deuxième étape, nous nous sommes intéressées à une étude plus fine des protéines du lactosérum du lait de dromadaire par l'utilisation de la technique d'électrophorèse bidimensionnelle suivie par la technique de spectrométrie de masse MALDI-TOF pour l'obtention de cartes peptidiques massiques. Les résultats obtenus ont été comparés avec ceux d'autres espèces en se basant sur les données de la littérature.

Dans la dernière étape de ce travail, nous avons détecté les immunoglobulines dans le lactosérum camelin par une approche immunologique.

II. Résultats

1. Analyse des protéines du lactosérum des Camélidés par RP-HPLC/ESI-MS

La méthode chromatographique utilisée nous a permis d'identifier trois pics majeurs chez le dromadaire et deux chez le lama (Figure 22 A et B).

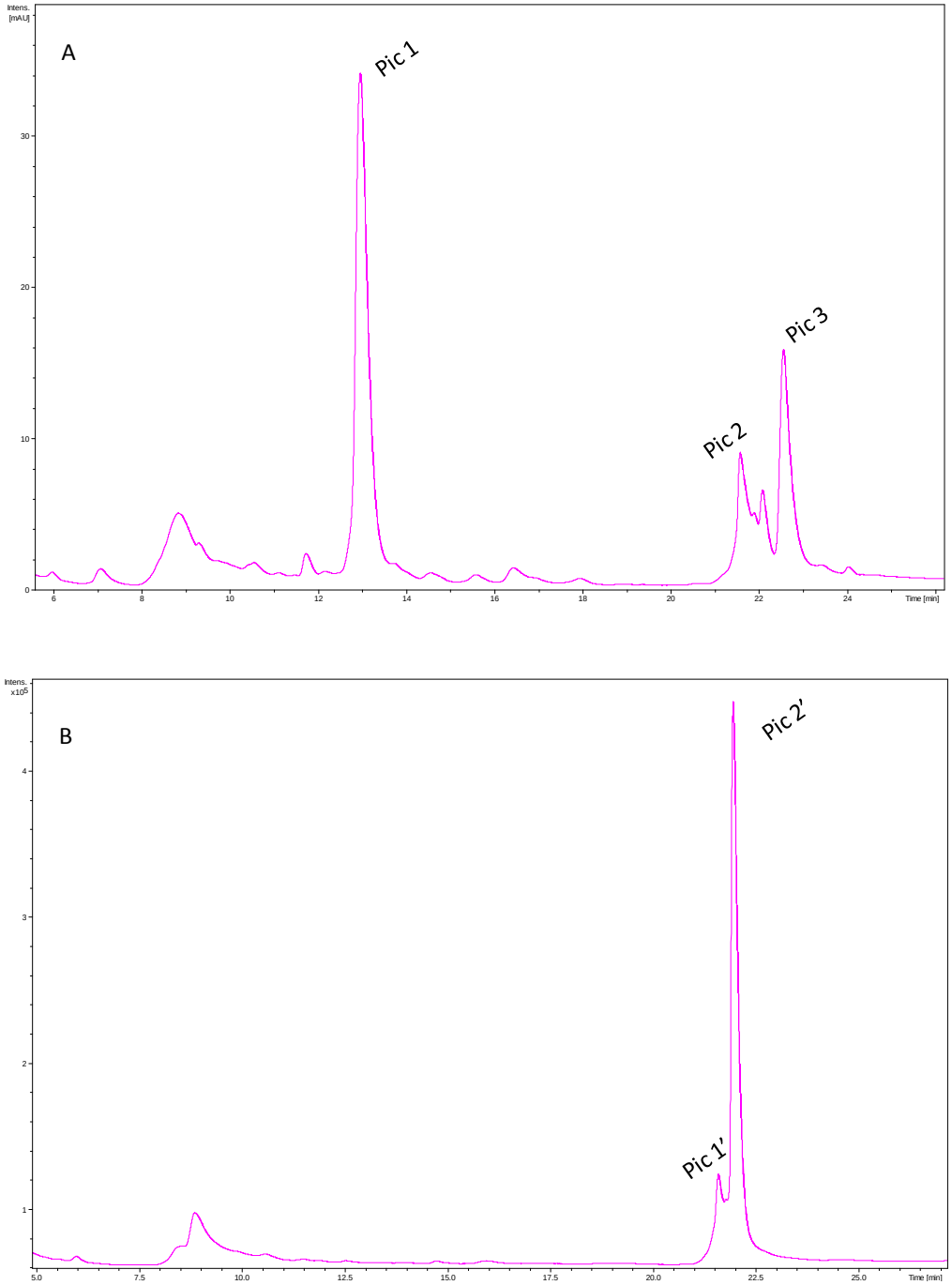

Figure 22. Analyse des protéines du lactosérum du lait de dromadaire (A) et de lama (B) par RP-HPLC/ESI-MS.

Ces pics majeurs ont été caractérisés par ESI-MS en se basant sur les masses disponibles dans la base de données de dromadaire et mammifères sur Uniprot. Les différentes masses sont indiquées dans le Tableau 12.

Tableau 12. Détermination des masses moléculaires des protéines du lactosérum du dromadaire et du lama par ESI-MS.

Numéro de pic	Protéine identifiée	Numéro d'accession Uniprot (espèce)	Masse observée (Da)	Masse théorique (Da)
1	α-lactalbumin	P00710 (*Camelus dromedarius*)	14,4430.3198	14,430.3557
2	PGRP	Q9GK12 (*Camelus dromedarius*)	19,143.6912	19,143.6417
3	Serum-albumin	P02769 (*Bos taurus*)	66,510.1058	66,510.702
1'	Lactoferrin	Q9TUM0 (*Camelus dromedarius*)	77,368.0864	75,211
2'	Serum-albumin α-lactalbumin	P02769 (*Bos taurus*) P00710 (*Camelus dromedarius*)	66,526.7083 14,314.3658	66,510.702 14,430.3557

Nous constatons dans la figure 22 que l'α-lactalbumine de lama est éluée neuf à dix minutes après celle de dromadaire et elle est éluée avec la sérum-albumine dans le même pic (Pic 2'). L'élution retardée de l'α-lactalbumine lamine par comparaison avec la protéine cameline a été observée précédemment dans les profils de RP-HPLC/SDS-PAGE et de RP-HPLC/ESI-MS, ce qui suggère que l'α-lactalbumine du lait de lama est plus hydrophobe que son homologue camelin.

La sérum albumine a été identifiée chez les deux Camélidés étudiés; par contre la PGRP n'a été identifiée que chez le dromadaire.

2. Séquençage de novo de l'α-lactalbumine à partir du lait de lama

L'α-lactalbumine du lait de lama est éluée plus tardivement que celle de dromadaire et elle migre un peu plus loin au niveau du gel SDS-PAGE (Figure 19, Partie I). Cela suggère que l'α-lactalbumine du lait de lama peut contenir un ou plusieurs résidus d'acides aminés plus hydrophobes que la protéine cameline modifiant ainsi son comportement

chromatographique. Puisque le génome de cette espèce n'est pas encore complètement séquencé, une approche de séquençage *de novo* a été entreprise afin de déterminer la séquence en acides aminés de l'α-lactalbumine. Cette approche, permet de séquencer des génomes inconnus n'ayant pas de référence disponible dans les bases de données. Les informations de la séquence de l'α-lactalbumine sont extraites directement à partir des données de MS/MS des peptides issus de la digestion trypsique des protéines chez les deux espèces.

Les différents ions issus des peptides (produits de digestion trypsique de la bande de l'α-lactalbumine du dromadaire et du lama) sont présentés sous forme de chromatogramme (Figure 23), des différences significatives ont été trouvées dans les deux échantillons, ces différences sont indiquées par des flèches (Figure 23).

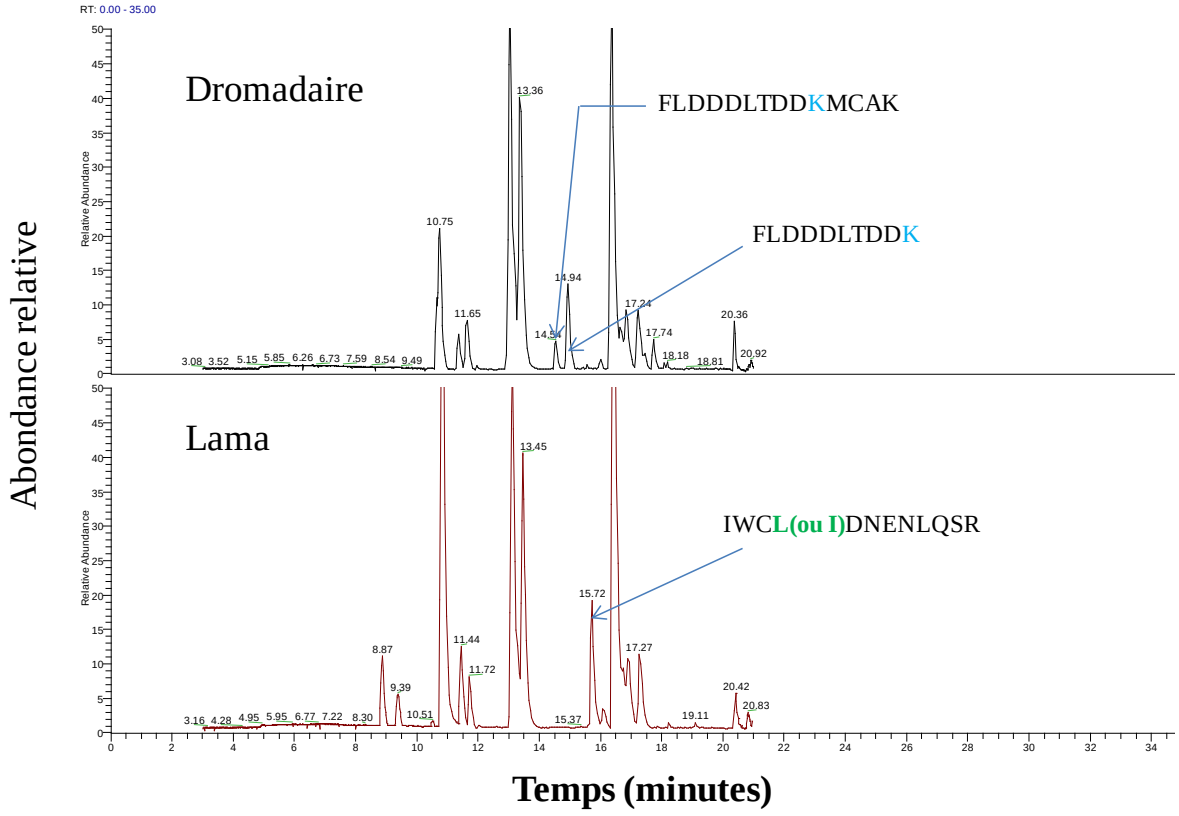

Figure 23. Séquençage *de novo* de l'α-lactalbumine de dromadaire et de lama analysés par LC-MS/MS : Chromatogramme des ions totaux des peptides issus de la digestion de l'α-lactalbumine

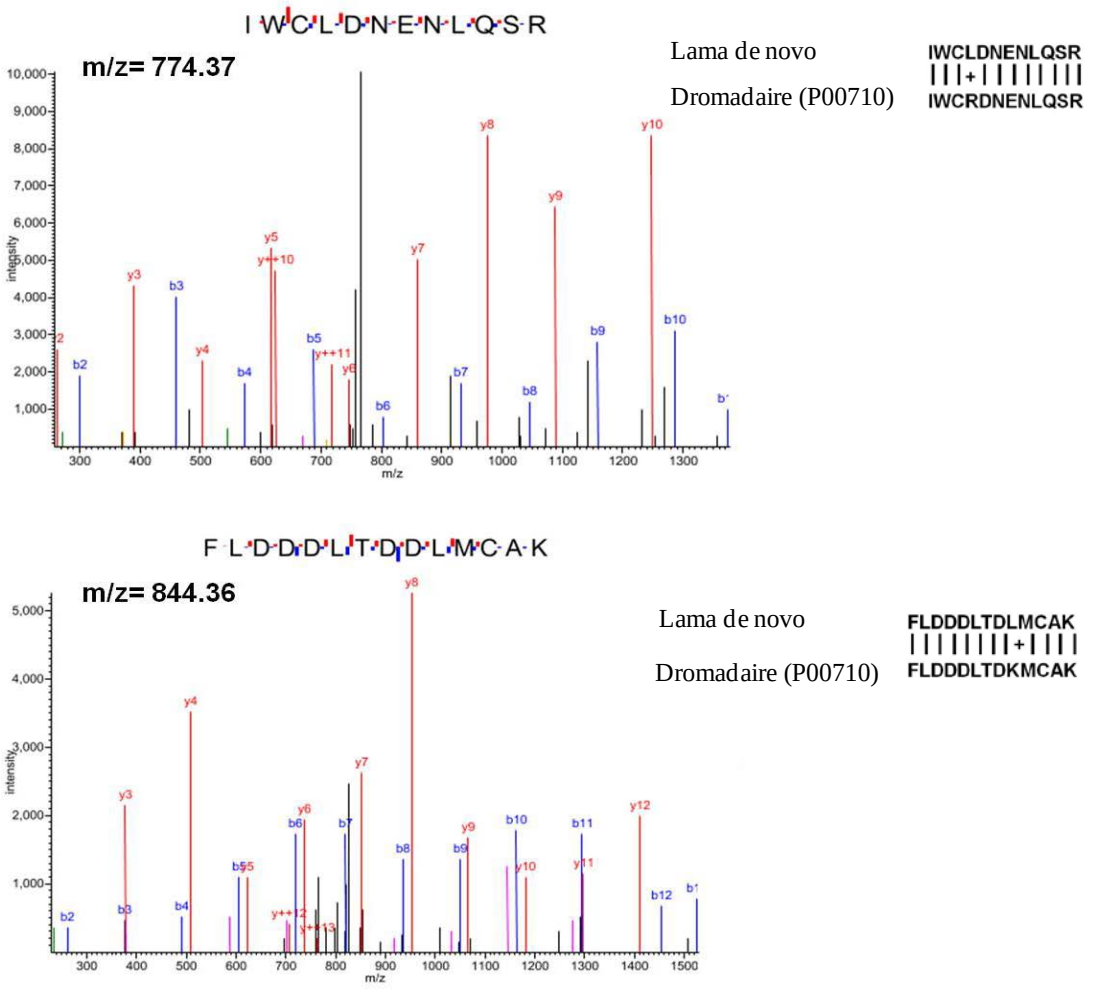

Figure 24. Séquençage de novo de l'α-lactalbumine de lama analysée par LC-MS/MS : Spectre de masse de dissociation induite par collision de peptides par spectre de masse en tandem

Les peptides issus de la digestion de l'α-lactalbumine de lama sont IWCLDNENLQSR (à m/z 774,37) et FLDDDLTDDLMCAK (à m/z 844,36). La séquence peptidique est obtenue sur la base des fragments observés y et b.

La figure 24 représente le spectre de masse de dissociation induite par collision de peptides de lama à m / z 774,37 et à m / z 844,36 correspondant respectivement aux séquences suivantes : IWCLDNENLQSR (résidus d'acides aminés de 59 à 70 de la protéine cameline) et FLDDDLTDDLMCAK (résidus d'acides aminés de 79 à 93 de la protéine cameline) dans l'α-lactalbumine.

Grace à cette approche, nous avons pu identifier deux mutations au niveau de la séquence de l'α-lactalbumine du lama par rapport à celle du dromadaire. Nous remarquons que l'acide aminé arginine est substitué par une leucine (ou isoleucine) au niveau de la position 62 et une lysine par une leucine (ou isoleucine) au niveau de la position 89 (Figure 25).

```
                        10         20         30         40         50         60
Vache (P00711)      EQLTKCEVFR ELKDLKGYGG VSLPEWVCTT FHTSGYDTQA IVQNNDSTEY GLFQINNKIW
Chèvre (P00712)     EQLTKCEVFQ KLKDLKDYGG VSLPEWVCTA FHTSGYDTQA IVQNNDSTEY GLFQINNKIW
Brebis (P09462)     EQLTKCEVFQ ELKDLKDYGG VSLPEWVCTA FHTSGYDTQA IVQNNDSTEY GLFQINNKIW
Homme (P00709)      KQFTKCELSQ LLKDIDGYGG IALPELICTM FHTSGYDTQA IVENNESTEY GLFQISNKLW
Cobaye (Q9TVD0)     KQLTKCALSH ELNDLAGYRD ITLPEWLCII FHISGYDTQA IVKNSDHKEY GLFQINDKDF
Souris (P29752)     TELTKCKVSH AIKDIDGYQG ISLLEWACVL FHTSGYDTQA VVNDNGSTEY GLFQISDRFW
Porc (P18137)       KQFTKCELSQ VLKDMDGYGD ITLPEWICTI FHISGYDTKT IVHDNGSTEY GLFQINNKLW
Cheval (P08334)     KQFTKCELSQ VLKSMDGYKG VTLPEWICTI FHSSGYDTQT IVKNNGKTEY GLFQINNKMW
Lapin (P00716)      TQLTRCELTE KLKELDGYRD ISMSEWICTL FHTSGLDTKI TVNNNGSTEY GIFQISDKLW
Chien (Q9N2G9)      KQFTKCELPQ VLKDMDGFGG IALPEWICTI FHTSGYDTQT IVNNNGGTDY GLFQISNKFW
Bufflonne (Q9TNS6)  EQLTKCEVFR ELKDLKDYGG VSLPEWVCTA FHTSGYDTQA IVQNNDSTEY GLFQINNKIW
Dromadaire (P00710) KQFTKCKLSD ELKDMNGHGG ITLAEWICII FHMSGYDTET VVSNNGNREY GLFQINNKIW
Lama (Notre étude)  KQFTKCKLSD ELKGMNGHGG ITLAEWICII FHMSGYDTET VVSNNGNREY GLFQINNKIW
                                  ≠

                        70         80         90        100        110        120
                                  +   + +  ++              ## #   #    #
Vache (P00711)      CKDDQNPHSS NICNISCDKF LDDDLTDDIM CVKKILDKVG INYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKL
Chèvre (P00712)     CKDDQNPHSR NICNISCDKF LDDDLTDDIV CAKKILDKVG INYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKL
Brebis (P09462)     CKDDQNPHSR NICNISCDKF LDDDLTDDIM CVKKILDKVG INYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKL
Homme (P00709)      CKSSQVPQSR NICDISCDKF LDDDITDDIM CAKKILDIKG IDYWLAHKAL CTEKLEQWLC EKL
Cobaye (Q9TVD0)     CESSTTVQSR NICDISCDKL LDDDLTDDIM CVKKILDIKG IDYWLAHKPL CSDKLEQWYC EAQ
Souris (P29752)     CKSSEFPESE NICGISCDKL LDDELDDDIA CAKKILAIKG IDYWKAYKPM CSEKLEQWRC EKP
Porc (P18137)       CRDNQI-QSK NICGISCDKF LDDDLTDDMM CAKKILDNEG IDYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKM
Cheval (P08334)     CRDNQILPSR NICGISCDKF LDDDLTDDVM CAKKILDSEG IDYWLAHKPL CSEKLEQWLC EEL
Lapin (P00716)      CVSKQNPQSK NICDTPCENF LDDNLTDDVK CAMKILDKEG IDHWLAHKPL CSENLEQWVC KK-
Chien (Q9N2G9)      CKDDQNLQSR NICDISCDKF LDDDLTDDMI CAKKILDKEG IDYWLAHKPL CSEKLEQWRC EKL
Bufflonne (Q9TNS6)  CKDDQNPHSS NICNISCDKF LDDDLTDDIM CVKKILDKVG INYWLAHKAL CSEKLDQWLC EKL
Dromadaire (P00710) CRDNENLQSR NICDISCDKF LDDDLTDDKM CAKKILDKEG IDYWLAHKPL CSEKLEQWQC EKW
Lama (Notre étude)  CLDNENLQSR NICDISCDKF LDDDLTDDIM CAKKILDKEG IDYWLAHKPL CSEKLEQWQC EKW
                     ≠                          ≠
```

Figure 25. Alignement de la séquence de l'α-lactalbumine chez différentes espèces

Les résidus Cysteine sont marqués en gris, les résidus d'acides aminés situés dans le pôle aromatique I qui sont essentiels pour l'activité α-lactalbumine sont encadrés, Les résidus d'acides aminés qui sont importants pour la structure de la protéine sont indiquées par "#", les sites de fixation du calcium de α-lactalbumine sont signalés par le signe ",+",. Les Résidus d'acides aminés qui diffèrent entre α-lactalbumine du lait de dromadaire et du lama sont indiqués par "≠".

Ces deux mutations d'acides aminés entraînent une perte de 58 Da de la masse moléculaire de l'α-lactalbumine de lama par rapport à la masse moléculaire de son homologue camelin. D'autre part, le séquençage N-terminal des 23 premiers résidus d'acides aminés de α-lactalbumine du lait de lama a montré la substitution de l'acide aminé Glycine par l'acide

aspartique à la position 14 (Cantisani et *al*., 1990). Cette substitution d'acides aminés entre la séquence de l'α-lactalbumine chez le dromadaire et celle du lama résulte en une perte supplémentaire de 58 Da. Par conséquent, les trois substitutions d'acides aminés dans l'α-lactalbumine du lait de lama par rapport à son homologue camelin (G14D, R62L ou I) et K89L (ou I) devraient être associés à une perte de 116 Da, ce qui est en accord avec nos données expérimentales montrant une masse moléculaire de l'α-lactalbumine d'environ 14430 Da pour le dromadaire et de 14314 Da pour le lama.

3. Analyse des protéines du lait de dromadaire par électrophorèse

3.1. Comparaison des protéines du lactosérum de différentes espèces par électrophorèse monodimensionnelle

Les protéines du lactosérum de trois espèces (dromadaire, vache et chèvre) ont été analysées par SDS-PAGE (Figure 26). Les profils électrophorétiques des protéines du lactosérum de vache et de chèvre sont très proches. Par contre, le dromadaire présente un profil assez particulier, on remarque l'absence d'une bande entre 16 et 17 kDa correspondant à la β-lactoglobuline, et l'apparition d'une bande supplémentaire qui est la PP3 (lactophorine).

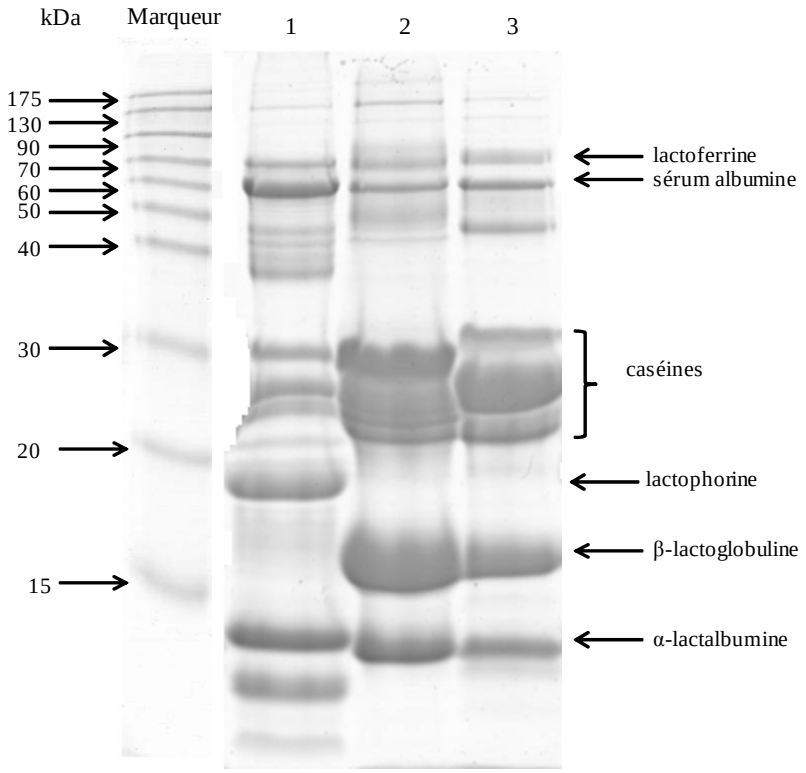

Figure 26. Séparation des protéines du lactosérum du lait de dromadaire (1), de vache (2) et de chèvre (3) sur un gel SDS-PAGE 12,5%

3.2. Identification des protéines du lactosérum de lait de dromadaire par électrophorèse bidimensionnelle suivie de MALDI-TOF

Le lactosérum de dromadaire se caractérise par sa richesse en protéines acides. En effet, nous remarquons dans la figure 27 que la majorité des protéines séparées par gel 2D sont plus abondantes sous forme de spots dans la région acide du gel à pH 4-7.

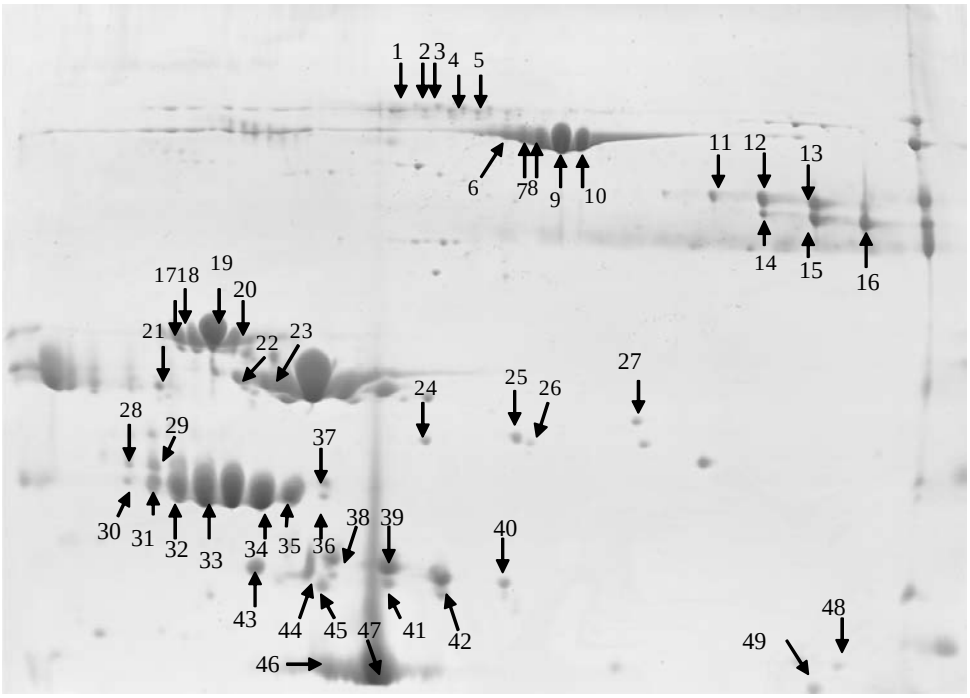

Figure 27. Séparation des protéines du lactosérum du lait de dromadaire (150 jours de lactation) sur un gel bidimensionnel avec une gamme de pH de 4-7

85 spots ont été découpés du gel et digérés à la trypsine mais seulement 49 ont été identifiés par empreinte de masse peptidique représentant dix protéines différentes (Tableau 13).

Tableau 13. Identification de protéines du lactosérum de dromadaire au stade de 150 jours de lactation par empreinte peptidique

Spot	Protéine	Numéro d'accesion	Espèce	Masse moléculaire Théorique	Point isoélectrique Théorique	Peptides identiques	Pourcentage De recouvrement de la séquence
1	Lactotransferrin	Q9TUM0	*Camelus dromedarius*	77212	8.7	21	25.6%
2	Lactotransferrin	Q9TUM0	*Camelus dromedarius*	77212	8.7	21	25.6%
3	Lactotransferrin	Q9TUM0	*Camelus dromedarius*	77212	8.7	10	11.4%
4	Lactotransferrin	Q9TUM0	*Camelus dromedarius*	77212	8.7	13	15.7%
5	Lactotransferrin	Q9TUM0	*Camelus dromedarius*	77212	8.7	3	3.2%
6	serum albumin precursor	NP_001009961	*Felis catus*	68660	5.5	7	9.7%
7	serum albumin isoform 11	XP_003265777	*Nomascus leucogenys*	69314	5.8	8	10%
8	Lactotransferrin	Q9TUM0	*Camelus dromedarius*	77212	8.7	9	10.2%
9	albumin	CAA76841	*Canis lupus familiaris*	65905	5.4	10	16.8%
10	serum albumin isoform 1	XP_003265777	*Nomascus leucogenys*	69314	5.8	12	17.6%
10	serum albumin isoform 2	XP_003265778	*Nomascus leucogenys*	69314	5.8	12	17.6%
11	milk fat globule EGF factor 8	AEA76431	*Camelus dromedarius*	32787	8.3	9	8%
12	milk fat globule EGF factor 8	AEA76431	*Camelus dromedarius*	32787	8.3	5	13.3%
13	milk fat globule EGF factor 8	AEA76431	*Camelus dromedarius*	32787	8.3	5	13.3%
14	milk fat globule EGF factor 8	AEA76431	*Camelus dromedarius*	32787	8.3	10	29.6%

15	milk fat globule EGF factor 8	AEA76431	*Camelus dromedarius*	32787	8.3	6	16.7%
16	milk fat globule EGF factor 8	AEA76431	*Camelus dromedarius*	32787	8.3	7	20.1%
17	Alpha-S1-casein	O97943	*Camelus dromedarius*	26862	5	11	39.1%
18	Alpha-S1-casein	O97943	*Camelus dromedarius*	26862	5	11	39.1%
19	Alpha-S1-casein	O97943	*Camelus dromedarius*	26862	5	3	9.6%
20	Alpha-S1-casein	O97943	*Camelus dromedarius*	26862	5	8	27%
21	Alpha-S1-casein	O97943	*Camelus dromedarius*	26862	5	6	21.3%
22	Alpha-S2-casein	O97944	*Camelus dromedarius*	22964	6	10	35.8%
23	Alpha-S2-casein	O97944	*Camelus dromedarius*	22964	6	10	35.2%
24	Beta-casein	Q9TVD0	*Camelus dromedarius*	26218	5.6	8	26.7%
25	Beta-casein	Q9TVD0	*Camelus dromedarius*	26218	5.6	6	24.1%
26	Beta-casein	Q9TVD0	*Camelus dromedarius*	26218	5.6	6	24.1%
27	Beta-casein	Q9TVD0	*Camelus dromedarius*	26218	5.6	6	24.1%
28	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	7	29.3%
29	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	8	45.7%
30	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	9	38.6%
31	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	10	47.9%
32	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	6	20%
33	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	7	29.3

34	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	4	15%
35	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	6	20%
36	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	8	38.6%
37	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	9	45.7%
38	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	6	20.7%
39	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	9	37.1%
40	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	8	38.6%
41	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	5	15.7%
42	lactophorin	CAB53389	*Camelus dromedarius*	15511	6.2	9	47.9%
43	Whey acidic protein	P09837	*Camelus dromedarius*	12564	4.9	5	24.8%
44	Whey acidic protein	P09837	*Camelus dromedarius*	12564	4.9	5	24.8%
45	Alpha-lactalbumin	P00710	*Camelus dromedarius*	14431	5	5	34.1%
46	Alpha-lactalbumin	P00710	*Camelus dromedarius*	14431	5	6	41.5%
47	Alpha-lactalbumin	P00710	*Camelus dromedarius*	14431	5	4	25.2%
48	Beta-casein	Q9TVD0	*Camelus dromedarius*	26218	5.6	8	28.9%
49	Beta-casein	Q9TVD0	*Camelus dromedarius*	26218	5.6	6	21.6%

Les principales protéines obtenues sont : l'α-lactalbumine, la sérum-albumine, la lactophorine et les caséines qui restent solubles dans la fraction sérique. De même, nous avons réussi à identifier la WAP « Whey Acidic Protein » (spots 43 et 44) qui n'apparaissait pas dans les profils de RP-HPLC de la première partie. Cette protéine se trouve dans la région acide du gel en deux isoformes de même poids moléculaire mais à des pI (points isoélectriques) différents.

Nous remarquons que la lactophorine occupe une place non négligeable dans la fraction soluble du lait camelin, elle se trouve dans la région acide du gel sous plusieurs isoformes (spots 28 -> 42). Dans le spectre obtenu de cette protéine, nous avons pu observer dix ions et les peptides issus de l'hydrolyse trypsique sont présentés dans le tableau 14. La figure 28 présente la séquence en acide aminée de cette protéine (Figure 28).

*MKFFAVLLLASLAATSLA*SL↓NEPKDEIYMESQPTDTSAQVIMSNHQVSSEDLSMEPSISREDLVSKDDVV
IKSARRHQNQNPKLLHPVPQESSFRNTATQSEETKELTPGAATTLEGKLVELTHKIIKNLENTMRETMDF
LKSLFPHASEVVKPQ

Figure 28. Séquence en acides amines de la lactophorine (Numéro d'accession Uniprot P15522). Le peptide signal N-terminal est en italique. La flèche indique l'extrémité N-terminale de la protéine mature. La séquence de recouvrement est soulignée

Table 14. Carte peptidique massique de la lactophorine identifiée chez le dromadaire

m/z Théorique	MH+ Observée	Coupures manquantes	Modification	Résidus	Séquence peptidique
839.4930	839.4985	0		104-110	LVELTHKLVELTHK
865.4223	865.4275	0		62-68	HQNQNPKHQNQNPK
877.4235	877.4196	0		114-120	NLENTMRNLENTMR
883.4206	883.4230	0		121-127	ETMDFLKETMDFLK
893.4105	893.4145	0	1 Oxydation	114-120	NLENTMR
899.4115	899.4179	0	1 Oxydation	121-127	ETMDFLK
1021.5417	1021.5286	1		61-68	RHQNQNPKRHQNQNPK
1287.6901	1287.6791	0		91-103	ELTPGAATTLEGKELTPGAATTLEGK
1409 .7745	1409.7536	0		69-80	LLHPVPQESSFRLLHPVPQESSFR
1438.7787	1438.7689	0		128-140	SLFPHASEVVKPQSLFPHASEVVKPQ

La lactadhérine, protéine majeure de la membrane de globule gras, est également apparue sous plusieurs iso formes (spots 11, 12, 13, 14,15 et 16) avec un pI entre 6 et 7 dans la fraction soluble des protéines du lait.

4. Détection des immunoglobulines camélines par Western blot

Les immunoglobulines purifiées à partir du lactosérum du lait de femme et de dromadaire sont séparées sur un gel SDS-PAGE 12,5% (Figure 29). Le profil protéique observé indique la présence des bandes entre 25 et 37 kDa chez les deux espèces.

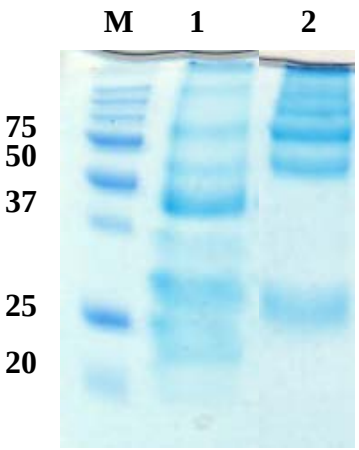

Figure 29. Séparation des immunoglobulines purifiées du lait de dromadaire (1) et de femme (2) sur un gel SDS-PAGE 12,5% ; M : marqueur de poids moléculaire, les masses sont en kDa

La réalisation d'un Western blot sur ce gel a montré qu'il ya une reconnaissance des immunoglobulines camélines purifiées par le kit « Admtech » avec les anticorps « goat anti-rabbit Ig G » (Figure 30 A) et « goat anti-mouse IgG M » (Figure 30 B). Ce dernier anticorps détecte les trois classes connues des IgG de dromadaire.

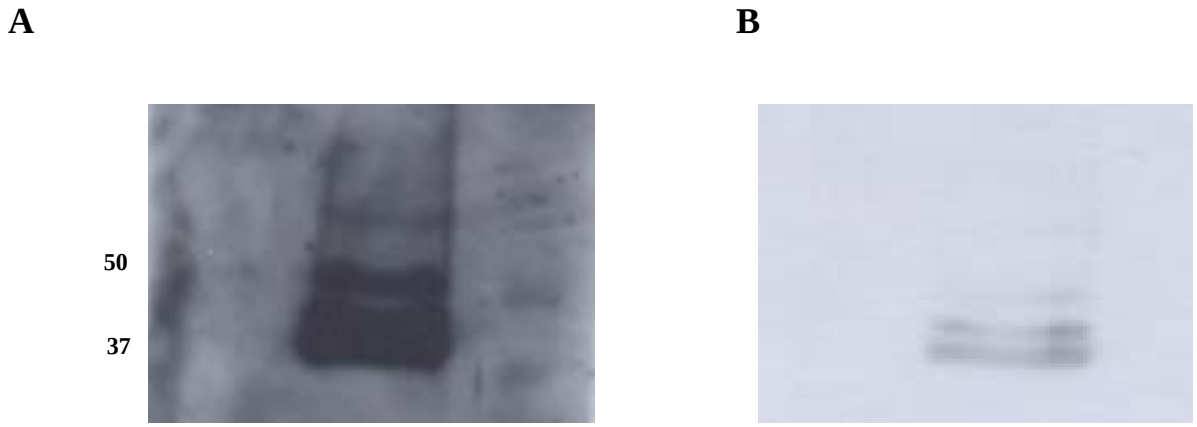

Figure 30. Détection des Ig G dans les protéines du lactosérum de dromadaire par « goat anti-rabbit Ig G » (A) et par « goat anti-mouse Ig G M » (B)

La figure 31 montre la détection des immunoglobulines G du lait de dromadaire au cours de la lactation, les résultats montrent que la femelle du dromadaire secrète ces Ig G dans son lait tout au long de la période de lactation.

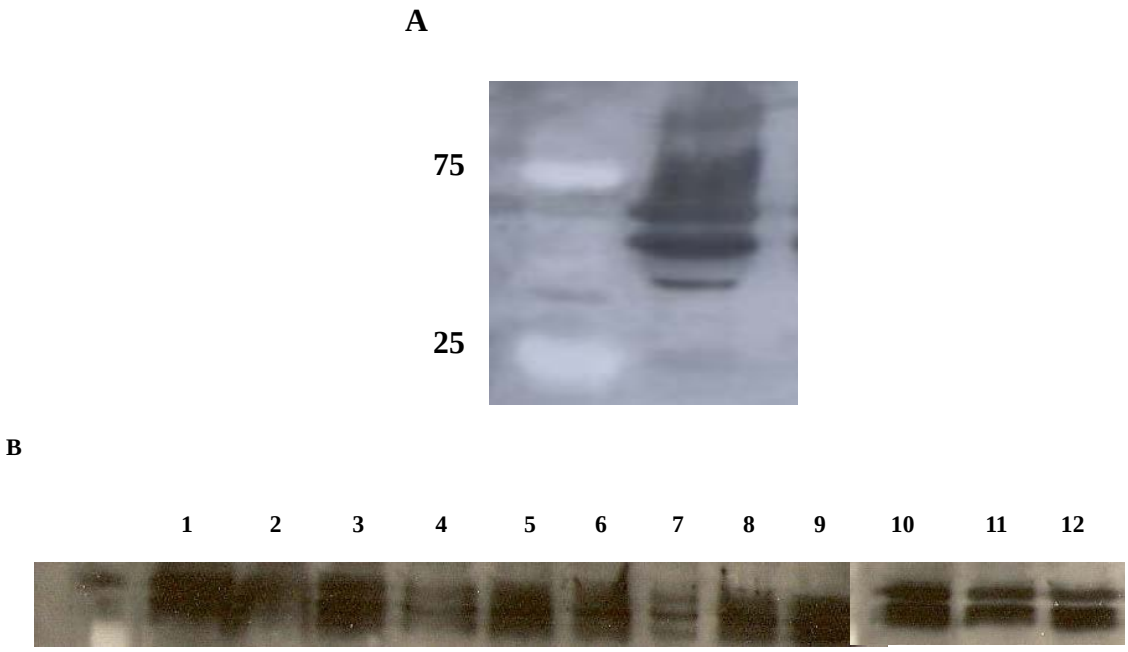

Figure 31. Détection des immunoglobulines par « goat anti-rabbit Ig G » du colostrum de dromadaire (A) et du lait de dromadaire à différents stades de lactations (B)

1 : 60 j, **2** : 75 j, **3** :90 j, **4** : 105 j, **5** : 120 j, **6** : 135 j, **7** : 150 j, **8** : 165 j, **9** : 180 j, **10** :195 j, **11** : 210 j, **12** : 225 j avec j : jour de lactation

Les immunoglobulines camélines sont reconnues aussi par la protéine A. La détection des Ig G camelines et humaines par la protéine A est illustrée dans la figure 32. Nous remarquons que les IgG humaines sont plus lourdes que celles du dromadaire.

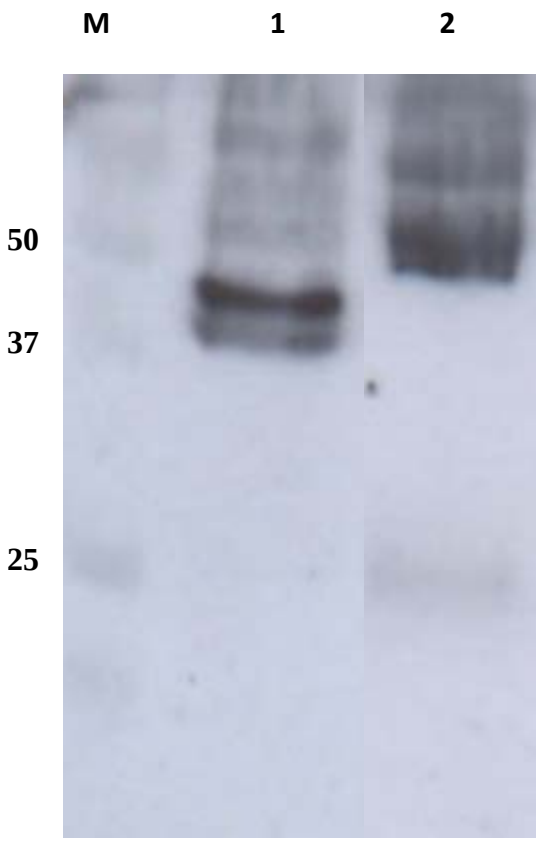

Figure 32. Détection des immunoglobulines par « goat anti-rabbit Ig G » du lait de dromadaire (1) et de femme (2). Les masses moléculaires (en kDa) sont données à gauche du gel

Nos résultats ont montré pour la première fois la compatibilité des immunoglobulines camélines avec la protéine A, le goat anti-rabbit Ig G et le goat anti-mouse Ig G M.

5. Analyse des protéines du lait de lama par LC-MS/MS

L'approche 1D-LC /MS nous a permis d'identifier 81 groupes de protéines dans le lait du lama (Annexe 6). Le piste 2 du gel (Figure 33) a été découpé en 24 morceaux, les fragments du gel obtenus ont été digérés par la trypsine et analysés par LC-MS/MS.

Nous avons remarqué qu'en plus des protéines majeures du lait (les caséines), et les protéines de la membrane de globules gras, le lait du lama contient un grand nombre des protéines du lactosérum impliquées dans la défense immunitaire telles que les immunoglobulines et autres à effet antibactériens comme la PGRP. En plus l'α-lactalbumine a été mise en évidence par contre la WAP n'a pas été identifiée.

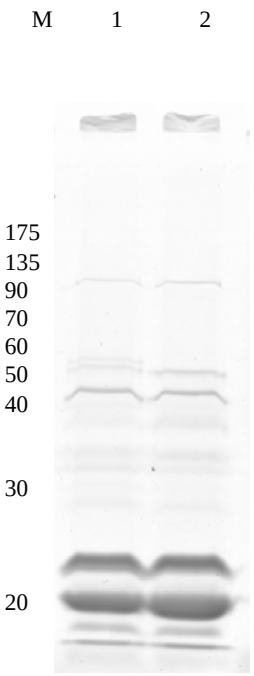

Figure 33. Séparation des protéines du lait du lama dilué cinq fois (Pistes 1 et 2) par SDS-PAGE à 10%. Les masses moléculaires (en kDa) sont données à gauche du gel

III. Discussion

1. Analyse des protéines du lactosérum des Camélidés par RP-HPLC/ESI-MS

Des différences significatives ont été observées entre les profils chromatographiques des protéines du lait de dromadaire et de lama. L' α-lactalbumine lamine est systématiquement éluée plus tardivement que son homologue camelin, ce qui suggère qu'elle est plus hydrophobe. Cette protéine du lactosérum est une composante de régulation du complexe enzymatique lactose synthétase, qui est responsable de la biosynthèse de lactose dans le lait.

Medhammar et *al*., 2012 ont rapporté des différences remarquables au niveau de la valeur moyenne de lactose entre les deux espèces (4,3 et 6,3 g/100 g pour le lait de dromadaire et lama, respectivement). Ces résultats pourraient suggérer que l'α-lactalbumine du lait lama est plus efficace que celle de dromadaire à l'égard de la synthèse du lactose. Des études de mutagenèse dirigée ont mis en évidence le rôle des composants structuraux de l'α-lactalbumine bovine. Les substitutions de l'acide aminé Gln 117 ou Trp 118 dans l'α-lactalbumine bovine (groupe aromatique I) réduisent l'affinité de l'α-lactalbumine pour le

composant catalytique du complexe de lactose synthase alors que des substitutions au niveau de Phe 31 ou His 32 ont des effets importants sur la capacité de fixation de glucose. D'autres substitutions situées dans le groupe aromatique II ont été trouvées, ces mutations influent plutôt sur le repliement de cette protéine (Grobler et *al*., 1994, Malinovskii et *al*., 1996). Les sites de fixation du calcium et des cations ont également été identifiés au niveau de l'α-lactalbumine (Permyakov et Berliner, 2000). L'alignement de l'α-lactalbumine chez 13 espèces de mammifères (Figure 25) montre que ces régions sont conservées entre les espèces. Néanmoins, les substitutions d'acides aminés de l'α-lactalbumine entre les deux Camélidés étudiées ne sont pas sur ces sites (figure 25).

2. Analyse des protéines du lait de dromadaire par électrophorèse

L'absence de la β-lactoglobuline dans le lactosérum camelin a été rapportée par plusieurs auteurs (El Hatmi et *al*., 2006 (a), (b), Zhang et *al*., 2005). Cette protéine est absente dans le lait des rongeurs ainsi que dans le lait humain (Hambling 1992).

La technique d'électrophorèse bidimensionnelle nous a permis d'identifier la WAP et la PP3 dans le lactosérum camelin. La WAP est sous forme de deux spots avec la même masse moléculaire mais avec des pI différents.

La protéine PP3 ayant un poids moléculaire entre 20 et 22 kDa sur le profil électrophorétique de dromadaire (Figure 26) a été observée comme une protéine inconnue par certains auteurs (Farah, 1986., Merin et *al*., 2001). Cette protéine existe sous plusieurs isoformes avec différents points isoélectriques (spots 30- 36) dans le gel bidimensionnel. Ces isoformes résultent de modifications post- traductionnelles, leur localisation dans la zone acide du gel peut être due à la présence de multiples groupements phosphates ce qui confère un caractère acide à cette protéine. La protéine PP3 contient à la fois des sites de phosphorylation et de glycosylation (Sorensen et *al*., 1993). Cette protéine glycosylée connue sous le nom de GLYCAM 1 (Fong et *al*., 2008), est une composante de la fraction de protéose peptone, qui est une fraction riche en glucides et ne précipite pas à 100°C suivi d'une acidification à pH 4,6 du lait et elle est associée à la membrane du globule gras (Kester et *al*., 1982).

Nos résultats ont montré que l'α-lactalbumine présente deux isoformes dans la région acide du gel, son pI de est estimée à 5,2 chez la chèvre (Chatteron et *al*., 2006). Cette protéine est présente chez tous les mammifères, elle existe sous trois variants chez le lait équin qui diffèrent par la substitution de quelques acides aminés au niveau de la séquence

(Godovac-Zimmerman et *al*., 1987), deux ou trois variants chez le bovin (Bell et *al*., 1981) et deux variants dans le lait humain (Chowanadisaia et *al*., 2005).

La WAP a été identifiée chez quelques espèces comme la souris, le lapin, le porc et le dromadaire mais aucune étude n'a montré sa présence chez les petits ruminants et l'homme probablement à cause de l'absence de l'expression de son gène ou l'absence du gène lui-même dans la glande mammaire (Hajjoubi et *al*., 2006).

3. Les immunoglobulines du lait de dromadaire

El Agamy, 1989 ont observé que la chaine lourde d'Ig G 1 camelin est de 55,5 kDa et la chaine légère est de 22,5 kDa. Il est possible d'identifier les différentes formes d'immunoglobulines camélines à partir des westerns blots. Les protéines camélines de 50 kDa obtenues dans le gel SDS-PAGE correspondent aux tailles de chaines lourdes d'Ig G1 et celles de 45 et 40 kDa correspondent aux chaines lourdes d'Ig G 3 et Ig G 2 respectivement. Les immunoglobulines purifiées à partir du lait de dromadaire représentent une réactivité avec les anticorps secondaires « goat anti rabbit Ig G » et « goat anti mouse Ig G M». La figure 34 montre que ces deux anticorps secondaires reconnaissent les chaines lourdes d'Ig G1, IgG2 et Ig G3 du lactosérum camelin. Les études de Youcef et *al* 2009 ont montré que les protéines du lactosérum du dromadaire ont une réactivité avec les Ig G antibovine α-lactalbumine.
La reconnaissance observée entre le dromadaire, la chèvre et lapin peut être due à une homologie au niveau de leur séquence protéique.

La réactivité des anticorps a été largement étudiée afin d'identifier les immunoglobulines chez différentes espèces (Vaerman, 1973 et Azwai et *al*., 1996).

Les Ig G camélines et humaines présentent des différences au niveau du poids moléculaire. La différence des tailles des immunoglobulines entre espèces a été déjà observée par El Agamy, 1994.

Les immunoglobulines des Camélidés diffèrent des autres anticorps. Hamers-Casterman et *al*., (1993), sont les premiers qui ont montré que les classes des chaines lourdes fonctionnelles des Ig G 1 des camélidés sont dépourvues des chaines légères. De Genst et *al*., 2006, ont montré que cette classe d'Ig G est capable de se lier aux antigènes malgré l'absence du domaine CH1.

La protéine majeure du colostrum camelin est l'Ig G1, et les immunoglobulines et les deux sous classes dépourvues de chaînes légères (Ig G2 et Ig G 3) pouvant jouer un rôle immunitaire et bactérien (El-Hatmi et *al*., 2006 (a)).

4. Protéines du lactosérum du lait de lama identifiées par LC-MS/MS

Grâce à la spectrométrie de masse, il était possible d'identifier la PGRP chez le lama, qui est probablement présente avec une teneur plus faible que chez le lait de dromadaire puisqu'elle n'était pas identifiée par RP-HPLC/MS. Le lait du lama pourrait avoir un effet bactéricide sur les bactéries pathogènes et non pathogènes à cause de la présence de la PGRP (Lu et *al*., 2006), il peut aussi être exploité comme un moyen de lutte contre les infections grâce à sa richesse en immunoglobulines.

Nous n'avons pas pu identifier la WAP par cette approche, cela pourrait être expliqué par son absence ou sa faible concentration dans le lait du lama.

IV. Conclusion

L'analyse comparative des protéines du lactosérum du dromadaire et du lama par RP-HPLC/ESI-MS a montré des différences au niveau de la masse moléculaire de l'α-lactalbumine. La combinaison de cette approche protéomique avec le séquençage *de novo* a permis d'identifier les acides aminés qui diffèrent dans la séquence de l'α-lactalbumine entre les deux espèces, dromadaire et lama.

L'étude fine des protéines du lactosérum de dromadaire a fait l'objet de la deuxième partie de ce travail. Nous avons remarqué que la technique de gel bidimensionnel suivi de MALDI-TOF est une technique performante permettant l'identification et la discrimination des protéines camélines. Nous avons pu identifier les différentes protéines majeures du lactosérum (la sérum albumine, l'α-lactalbumine, la WAP, la lactoferrine et la PP3). Nous avons réussi également à mettre en évidence dans la fraction soluble du lait, les caséines et une protéine associée à la membrane du globule gras du lait: la lactadhérine ou MEGF-8.

Les techniques de western blot utilisées ont montré que le lait du dromadaire contient des Ig G tout au long de la lactation et présente une réactivité avec la protéine A et les anticorps produits chez la chèvre.

L'analyse des protéines du lait du lama par LC-MS/MS a montré que ce lait est riche en immunoglobulines.

Partie III.
Caractérisation des protéines de la membrane du globule gras du lait des Camélidés

I. Introduction

La membrane du globule gras est une structure complexe, constituée de protéines, de phospholipides, de glycoprotéines, de lipides neutres et d'enzymes (Danthine et *al*.,2000). Cette membrane a été bien étudiée chez le bovin (Reinhardt & Lippolis, 2006, 2008), chez l'ovin (Pisanu et *al*., 2011) et chez l'humain (Liao et *al*., 2011). En ce qui concerne les Camélidés, les études sont presque inexistantes sur cette fraction protéique du lait.

Cette partie du travail a eu pour objectif de générer pour la première fois des données concernant les protéines de la membrane du globule gras chez le dromadaire par des approches protéomique et moléculaire, de classer les protéines identifiées selon leurs fonctions biologiques et moléculaires et selon leur localisation cellulaire par des logiciels de bioinformatique. Nous avons également réalisé une étude comparative de la composition en protéines majeures de la membrane du globule gras chez le dromadaire et le lama.

II. Résultats

1. Caractérisation des protéines majeures de la membrane des globules gras du lait de dromadaire

1.1. Protéines majeures de la membrane des globules gras du lait de dromadaire

La figure 34 montre la migration électrophorétique des protéines du lait écrémé (A) et des protéines de la membrane de globule gras du lait de dromadaire (B). Nous remarquons qu'avec nos préparations de la membrane de globules gras, nous avons réussi à éliminer une grande partie de caséines qui représentent 80% des protéines du lait, bien que des bandes mineures qui correspondent à la région des caséines avec des poids moléculaires entre 20 et 40 kDa étaient encore présentes et associées à la membrane comme l'a signalé Reinhardt et Lippolis, (2006) dans le lait de vache.

Par contre, il est à noter que la majorité des protéines de la membrane des globules gras du lait de dromadaire (Figure 34 B) présentent des poids moléculaires supérieurs ou égaux à 40 kDa ce qui explique qu'avec le protocole d'extraction utilisé, nous avons réussi à bien enrichir la membrane de globule gras en protéines membranaires. Les bandes SDS-PAGE correspondant à ces protéines majeures de la membrane des globules gras ont été découpées, digérées avec la trypsine et identifiées par LC-MS/MS, ils correspondent aux Fatty acid synthase (FAS), la xanthine oxydase (XO), la butyrophiline (BTN) et la lactadhérine (LDH)).

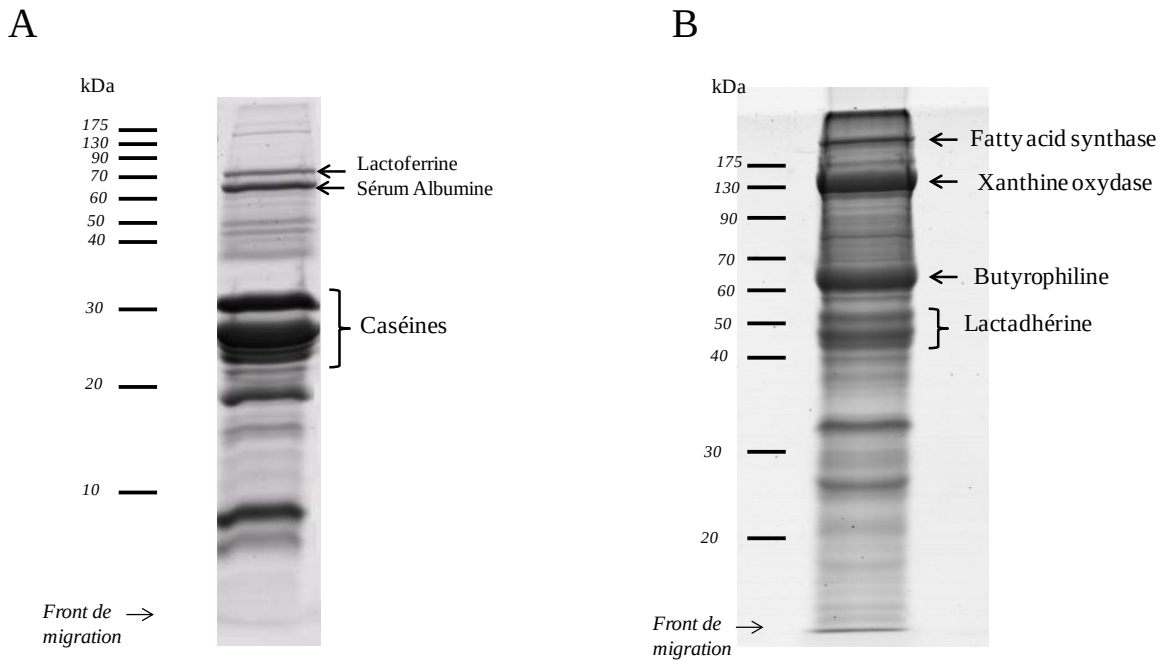

Figure 34. Migration des protéines du lait (A) et des protéines de la membrane des globules gras (B) du lait de dromadaire sur un gel SDS-PAGE 10%

La figure 35 montre la comparaison des migrations des protéines de la membrane des globules gras du lait sur un gel SDS-PAGE 6%. La xanthine oxydase (bande a) migre au même niveau chez les différentes espèces. Chez le dromadaire, la butyrophiline a été identifiée avec un poids moléculaire de 63 kDa, cette protéine migre plus rapidement que ses homologues bovins, caprin, ovin et équin. Nous remarquons deux isoformes majeures de la lactadhérine (bande c) chez le dromadaire (49 et 55 kDa), de même chez le lait bovin. Par contre une seule isoforme a été observée chez la chèvre et la brebis et au moins trois isoformes chez la jument (Cebo et Martin, 2012).

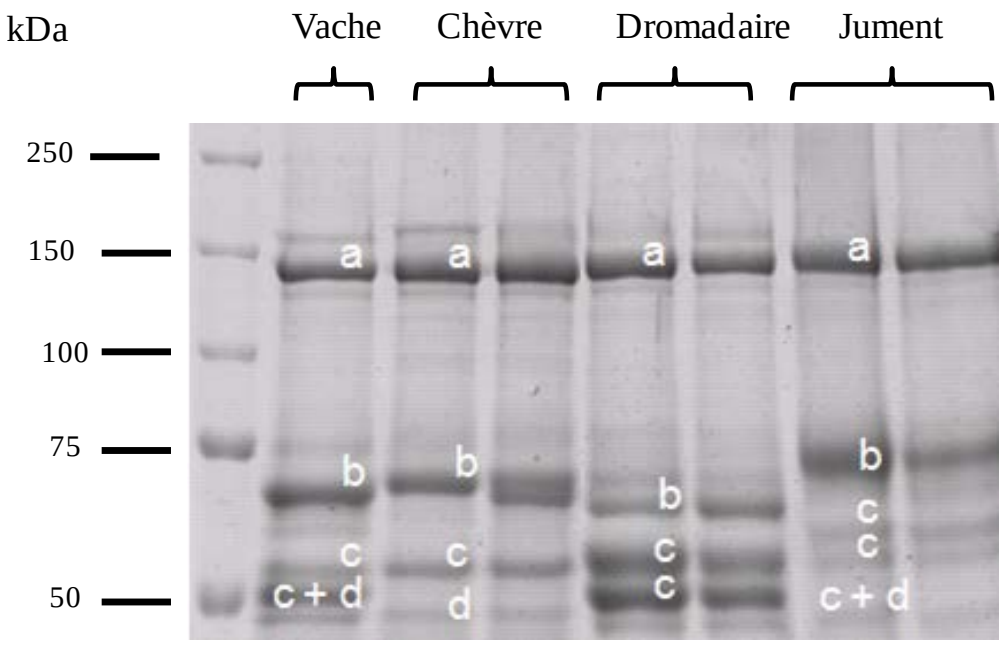

Figure 35. Séparation sur gel SDS-PAGE 6% des protéines de la membrane de globule gras du lait de différentes espèces. Les protéines majeures de la membrane du globule gras identifiées sont **a**: xanthine oxydase, **b**: butyrophiline, **c**: lactadhérine, **d**: adipophiline

Les résultats de western blot (Figure 36) utilisant des anticorps spécifiques contre la lactadhérine bovine confirment la présence de deux protéines majeures chez le dromadaire, de deux protéines chez la vache. Par contre une seule bande correspondant à la lactadhérine a été observée dans le lait de chèvre.

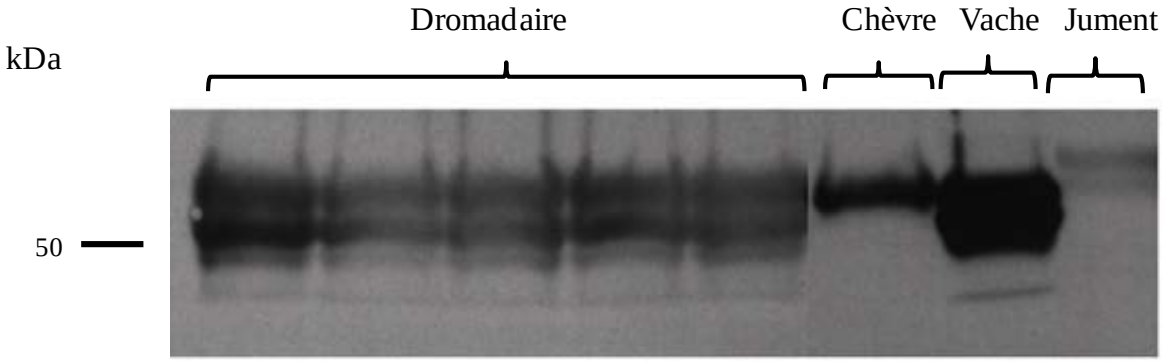

Figure 36. Identification de la lactadhérine parmi les protéines de la membrane du globule gras du lait de différentes espèces par western blot

1.2. Identification des protéines de la membrane de globule gras du lait de dromadaire par LC-MS/MS

Les globules gras s'enveloppent, au cours de leur synthèse, de différentes membranes dans la cellule épithéliale mammaire (membrane du réticulum endoplasmique puis membrane apicale) (Heid et Keenan, 2005). La composition protéique de la membrane des globules gras peut donner des informations pertinentes sur la biologie de la cellule épithéliale elle-même. Actuellement, seules les séquences de 146 protéines sont disponibles dans la base de données UniprotKB pour l'espèce *Camelus dromedarius*, et aucune protéine de la membrane du globule gras n'est, à ce jour, séquencée à part la lactadhérine (nos travaux, numéro d'accession F5BZ34). Le génome du *dromadaire* est en cours de séquençage, et 70000 EST (expressed sequence tags) sont déjà disponibles chez cette espèce sur le site (http://camel.kacst.edu.sa/). Toutefois, l'identification des protéines par la spectrométrie de masse peut être réalisée efficacement, soit par comparaison avec des protéines homologues d'autres espèces ou grâce aux EST produits chez le dromadaire et traduits dans les six cadres de lecture.

Nous avons utilisé l'approche 1D-LC-MS/MS pour identifier les protéines de la membrane de globules gras du lait de dromadaire. Dans notre étude, nous avons utilisé deux bases de données :

- Base de données des mammifères UniprotKB (janvier 2012, 827782 entrées).
- Base de données EST chameau (http://camel.kacst.edu.sa/) traduites en six cadres de lecture.

Grâce à cette approche, nous avons pu identifier 322 familles de protéines au niveau de la membrane du globule gras de dromadaire (Annexe 7).

322 séquences FASTA des protéines de la membrane de globules gras du lait de dromadaire identifiées par LC-MS/MS ont été blastées contre les données de base humaines (UniprotKB /Swiss-Prot) en utilisant l'outil blastp disponible sur le site NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/). 319 entrées uniques humaines ont été retrouvées, nous avons ensuite utilisé l'outil d'annotation DAVID (The **D**atabase for **A**nnotation, **V**isualization and **I**ntegrated **D**iscovery.

Les données de l'analyse protéomique ont été classées en fonction des paramètres fonctionnels grâce à ce logiciel DAVID: 89,2% ont été classées selon leurs fonctions biologiques (Annexe 8), 93,4% selon leurs localisations cellulaires (Figure 37) et 85,1% selon leurs fonctions moléculaires (Annexe 9).

Comme prévu, une grande proportion des protéines est impliquée dans le transport des protéines avec un *p*-value =1,73 x 10^{-14}, sans oublier les protéines ayant un rôle dans le métabolisme des lipides et l'organisation du cytosquelette de p-value égales à 6,72 x 10^{-08} et 2,72 x10^{-04} respectivement.

La figure 37 montre la répartition cellulaire des protéines identifiées. Ces protéines sont majoritairement membranaires. Un autre groupe important de protéines est localisé dans le cytosol.

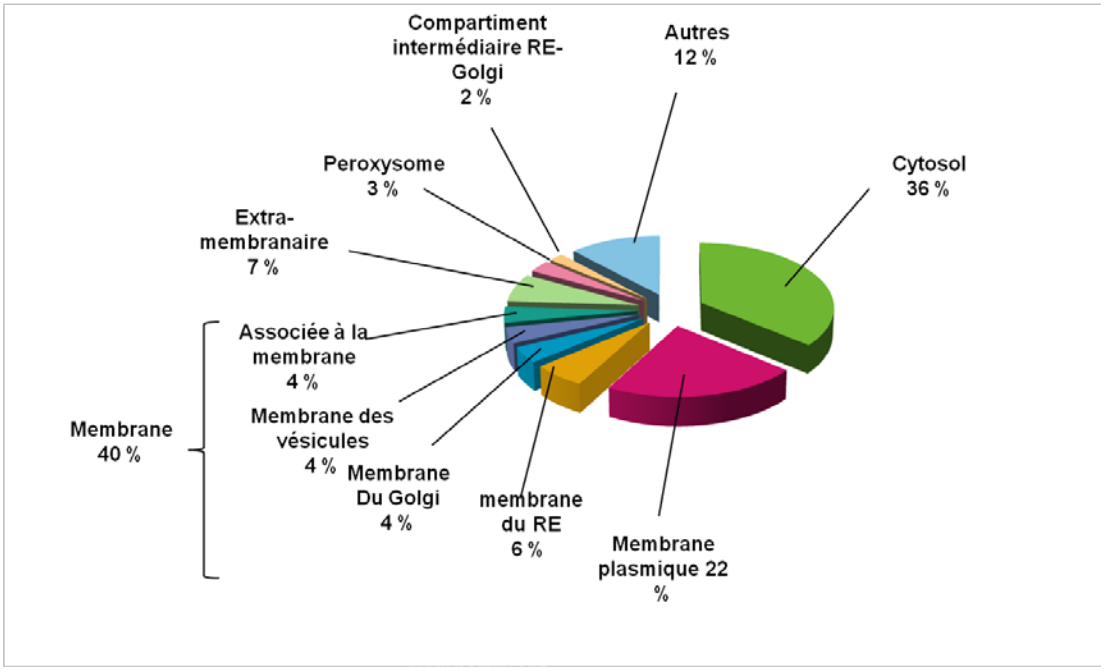

Figure 37. Localisation cellulaire des protéines identifiées de la membrane de globules gras du lait de dromadaire

1.3. Identification des protéines de la membrane de globule gras du lait du lama par LC-MS/MS

La piste 2 du gel (Figure 38) a été découpée en 24 bandes. Ces dernières ont été digérées par la trypsine, les peptides issus de la digestion ont été analysés par LC-MS/MS comme réalisés précédemment pour le dromadaire avec quelques modifictaions. La base de données utilisée dans cette partie est la base des Camélidés Ncbi (Version Novembre 2013, 23501 entrées de protéines). Cette approche nous a permis d'identifier 187 groupes de protéines au niveau de la membrane du globule gras du lait de lama y compris comme chez le

dromadaire les protéines majeures de la membrane de globules gras : la xanthine oxydase, la butyrophiline et la lactadhérine (Annexe 10).

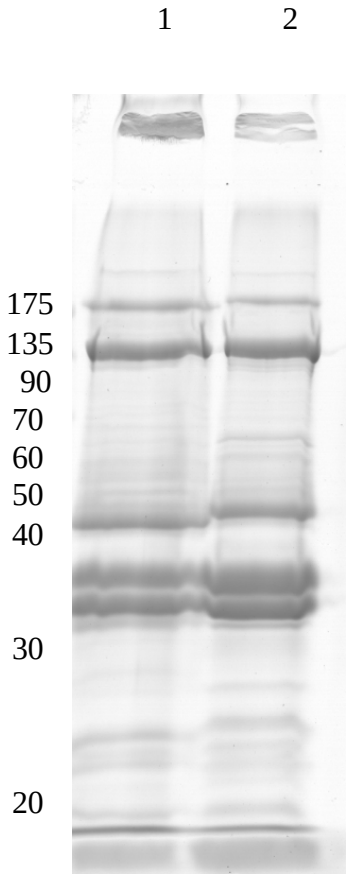

Figure 38. Séparation de 20µg de protéines de la membrane de globules gras du lait de dromadaire (piste 1) et du lama (piste 2) sur le gel SDS PAGE 10%

2. Comparaison des protéines majeures de la membrane des globules gras du lait chez les deux Camélidés : le dromadaire et le lama

2.1. Séparation des protéines de la membrane de globules gras du lait des Camélidés par SDS-PAGE 10%

La figure 39 montre que les différentes protéines de la membrane de globule du lait de dromadaire et de lama présentent des profils électrophorétiques très proches ; la lactadhérine apparait sous deux isoformes majeures chez ces deux espèces.

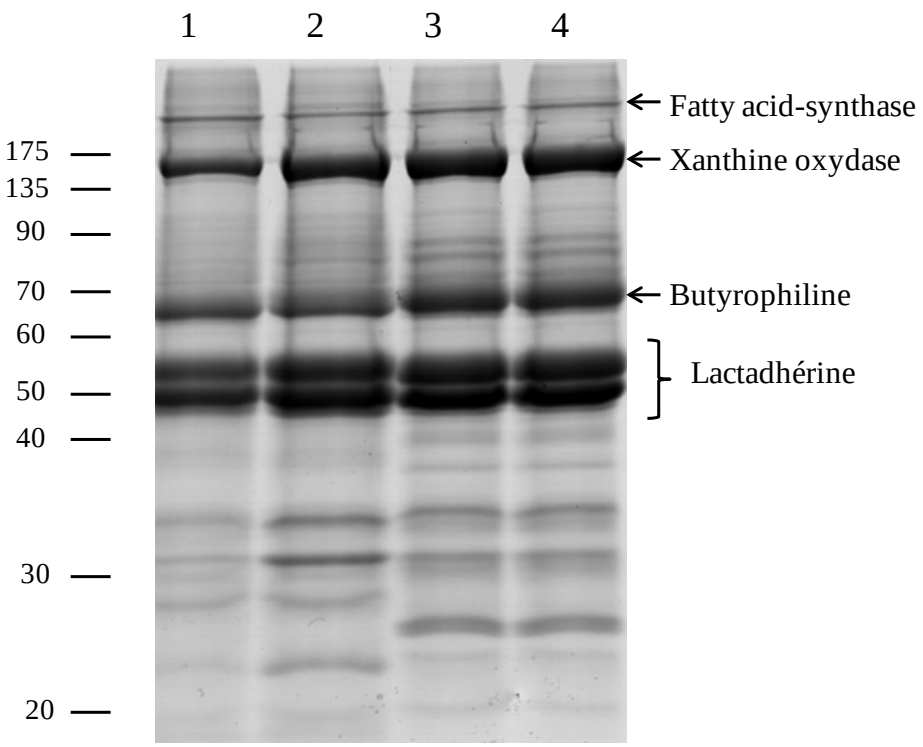

Figure 39. Séparation de 25 µg des protéines de la membrane de globule gras du lait de dromadaire (1, 2) et du lama (3, 4) sur SDS-PAGE 10%

2.2. Amplification de la lactadhérine des Camélidés

Les amplifications de la lactadhérine à partir des ARN extraits du sang de dromadaire et de lama, ont montré un seul pic d'amplification pour les deux espèces (Figure 42 A et B) avec une taille de 1252 pb pour le lama et de 1199 pb pour le dromadaire.

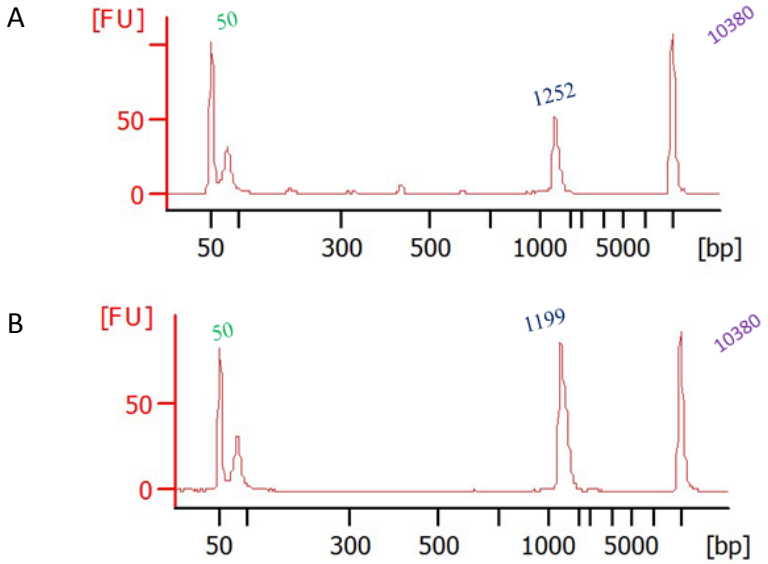

Figure 40. Electrophorégramme de produits de PCR de la lactadhérine lamine (A) et cameline (B), avec FU : Unité de fluorescence et bp : Paire de bases

III. Discussion

1. La lactadhérine, protéine majeure de la membrane de globule gras

Nous observons une grande diversité moléculaire de la lactadhérine, (LDH) protéine majeure de la membrane du globule gras (Raymond et *al*., 2009), cette protéine apparait sous une seule isoforme chez la chèvre (Cebo et *al*., 2010). Les travaux de Cebo et *al*., 2012 ont montré que chez la jument il ya quatre isoformes de la LDH. Deux isoformes majeures sont observées chez le dromadaire (nos travaux) et deux également chez la vache (Hvarregaardet *al*., 1996).

Nous avons amplifié la LDH chez le dromadaire et le lama, nous avons obtenu un seul pic pour les deux espèces donc il y a un seul transcrit ce qui confirme qu'il n'y a aucun variant d'épissage, donc il n'y a pas de modifications post-transcriptionnelles pour cette protéine. Ces différentes isoformes observées dans le lait de Camélidés peuvent avoir un rôle biologique dans la glande mammaire.

2. Protéines associées à la membrane de globules gras de dromadaire

L'approche protéomique d'électrophorèse monodimensionnelle couplée à la LC-MS/MS a été utilisée avec succès pour identifier les protéines associées à la membrane de globule gras du lait de la vache (Reinhardt & Lippolis, 2006), de la brebis (Pisanu et *al*., 2011) et chez l'humain (Hettinga et *al*., 2011).

Parmi les 322 protéines de la membrane de globules gras de dromadaire identifiées, nous remarquons qu'il ya a plus que 35 % des protéines qui sont localisées dans le cytosol. Cela peut être expliqué par le fait que ces protéines sont piégées lors du bourgeonnement du globule gras à la membrane apicale des cellules épithéliales mammaires.

3. Protéomique de la membrane de globule gras: Identification de nouveaux partenaires de la sécrétion lipidique dans la cellule épithéliale mammaire

Le mécanisme de sécrétion des lipides dans le lait débute au niveau du réticulum endoplasmique de la cellule épithéliale mammaire. Les gouttelettes lipidiques issues du réticulum migrent à travers le cytoplasme de la cellule sécrétrice vers le pole apical de la cellule sécrétrice. Ces gouttelettes lipidiques cytoplasmiques une fois arrivées au pôle apical, s'enveloppent progressivement par la membrane plasmique avant d'être libérée sous forme de globule gras dans le lait. La membrane de globule gras est une structure complexe composée de deux membranes, une monocouche de phospholipides issue du réticulum endoplasmique et

une bicouche lipidique provenant de la membrane plasmique au cours du bourgeonnement apical (Heid et *al*., 2005). Le mécanisme moléculaire de la sécrétion des lipides par les cellules épithéliales mammaires reste controversé. Le modèle tripartite de la sécrétion des lipides du lait propose que l'adipophiline (ADPH) qui est à la surface des gouttelettes lipidiques interagit avec la butyrophiline au niveau de la région apicale de la cellule épithéliale mammaire. Cette interaction conduit à l'oligomérisation de la BTN et la déformation de la membrane apicale qui conduit au bourgeonnement final des gouttelettes lipidiques et leur libération sous forme de globules gras dans le compartiment luminal. La fixation de la xanthine oxydase, sur les sites d'oligomérisation de la butyrophiline est proposée pour stabiliser ce complexe (Heid et *al*., 2005; MacManaman et *al*., 2007 et Mather et *al*., 1998).

Toutefois, il a été démontré récemment que le domaine C-terminal de l'adipophiline est capable de se lier directement à la membrane plasmique (Chong et *al*., 2011 (a) et (b)). Il a été également suggéré que la butyrophiline joue un rôle primordial dans l'excrétion des globules gras à partir des cellules épithéliales mammaires (Robenek et *al*., 2006 (a) et (b)).

A part les trois protéines majeures de la membrane de globule gras (ADPH, BTN et la XO) qui jouent un rôle important dans la sécrétion des globules gras du lait, nous avons trouvé 322 protéines associées à la membrane de globule gras du lait de dromadaire. Des études protéomiques à grande échelle sur les membranes des globules gras du lait de la vache (Reinhardt et *al*., 2006 et Hettinga et *al*., 2011), de brebis (Pisanu et *al*., 2011) et de la femme (Hettinga et *al*., 2011) ont révélé des quantités comparables des protéines associées à la membrane de globules gras du lait. Une question se pose ici : ces protéines sont-elles associées à la la membrane de globules gras du lait par hasard (par exemple entraînées avec les membranes pendant la biogenèse des gouttelettes lipidiques ou lors de l'excrétion des globules gras de la cellule épithéliale mammaire) ou sont-elles plutôt des partenaires actifs de la sécrétion de globules gras du lait et / ou de l'excrétion de la cellule épithéliale mammaire?

Plusieurs études protéomiques ont montré que les protéines appartenant à la famille Rab, ont été identifiées dans des gouttelettes lipidiques purifiées. Cependant, quatre protéines Rab ont été caractérisées dans toutes les études à ce jour: Rab 1, Rab 5, Rab 7 et Rab 18 (Murphy et *al*., 2009).

Parmi les protéines Rab, la Rab-18 est probablement la protéine la plus associée aux gouttelettes lipidique. Son expression est inversement proportionnelle à celle de l'ADRP, protéine majeure de la membrane de globule gras du lait et impliquée dans la sécrétion des globules gras du lait dans la cellule épithéliale mammaire.La Rab-18 contrôle la localisation

des gouttelettes lipidiques dans la cellule, car la surexpression de cette protéine dans les cellules HepG2 produit son association au RE (Ozeki et *al*., 2005). La Rab-5 joue un rôle important dans le transport vésiculaire (Nielsen et *al*., 1999 et Marotta et *al*., 2006). Les événements de fusion entre les vésicules de transport et de la membrane plasmatique restent largement incompris.

Parmi les protéines SNARE (Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein REceptor), la protéine SNAP-23 (synaptosomal-associated protein 23), la syntaxine-3, et la synaptobrevin homolog (Ykt6) ont été trouvées dans la membrane du globule gras chez la vache et le dromadaire. De même, l'ATPase N-éthylmaléimide facteur sensible (NSF) a été trouvée dans la membrane de globule gras du lait de dromadaire. En outre, la présence de SNAP-23 a été récemment démontrée dans les cellules épithéliales mammaires de souris et un rôle pour SNAP-23 dans la médiation de la fusion entre les gouttelettes lipidiques cytoplasmiques a été mis en évidence (Bostrom et *al*., 2007 et Chat et *al*., 2011).

Notre étude a permis d'identifier plus de 320 et 185 protéines associées à la membrane de globule gras du lait de dromadaire et de lama respectivement. Parmi ces protéines peuvent se trouver des partenaires potentiels de la sécrétion des lipides du lait. Par conséquent, nous espérons que cette étude va améliorer la compréhension des voies de sécrétion des lipides dans la cellule épithéliale mammaire.

IV. Conclusion

Notre présente étude a fourni pour la première fois une description détaillée des protéines associées à la membrane des globules gras du lait, membrane complexe enveloppant le noyau des triglycérides chez le dromadaire (*Camelus dromedarius*) et le lama (*Llama glama*). Les protéines majeures de la membrane du globule gras du lait, la fatty synthase, la xanthine oxydase, la butyrophiline et la lactadhérine ont été identifiées parmi les protéines de la membrane de globule gras du lait des Camélidés. En outre, une approche protéomique 1D-LC-MS/MS a conduit à l'identification de plus de 320 et 185 familles de protéines associées à la matière grasse du lait chez le dromadaire et le lama respectivement.

En raison du processus de sécrétion, la composition protéique de la membrane de globule gras du lait reflète celle du réticulum endoplasmique (RE) et de la membrane plasmique apicale. Ainsi, la composition de la membrane du globule gras du lait peut donner des informations pertinentes sur les changements dynamiques au sein de la cellule épithéliale mammaire et peut fournir un « instantané » de la biologie de la glande mammaire dans des conditions particulières comme les mammites. En outre, les études protéomiques de la

membrane de globule gras du lait peuvent constituer un outil puissant pour clarifier les voies de sécrétion des lipides dans la glande mammaire (Cebo, 2012). Nous espérons donc que l'identification des partenaires moléculaires impliqués dans la sécrétion des gouttelettes lipidiques permettra d'améliorer la compréhension de leur rôle précis dans la sécrétion des globules gras du lait au niveau de la glande mammaire chez le dromadaire.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Le lait camelin constitue depuis des temps très lointains, la principale ressource alimentaire pour les peuplades nomades qui le consomment habituellement à l'état cru ou fermenté. C'est un produit traditionnellement utilisé dans la plupart des zones pastorales sahariennes, comme les régions arides de la Tunisie pour des vertus thérapeutiques.

Le lait camelin a fait l'objet de plusieurs travaux, il semble nécessaire d'approfondir les connaissances concernant les composés protéiques de ce lait, non seulement les caséines qui ont été largement caractérisées (Kappeler et *al*., 1998), mais notamment les protéines du lactosérum et aussi les protéines de la membrane de globule gras du lait en combinant différentes techniques de protéomique et des approches moléculaire et immunologique.

Bien que le lait de lama ait fait l'objet de travaux sur les lipides, le lactose et la composition minérale, les études sur sa composition protéique restent très limitées.

A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à une meilleure compéhension de la composition protéique du lait de Camélidés. Cette étude s'est axée sur l'analyse de la fraction des caséines, de la fraction du lactosérum et de la fraction protéique de la membrane de globule gras.

Ainsi, la première partie de ce travail a été consacrée à la caractérisation des protéines du lait écrémé de dromadaire et de lama par la technique de RP-HPLC en premier lieu et la détermination des masses moléculaires précises de ces protéines grâce à l'outil RP-HPLC/ESI-MS.

Nos travaux on montré que le lait de lama est plus riche en protéines que celui de dromadaire. La caractérisation au niveau protéique de l'hétérogénéité des fractions des caséines par les techniques de RP-HPLC/ESI-MS, a montré l'existence en une seule fraction éluée d'une phosphorylation variable de l'isofome de la caséine αs_1 (5P, 6P, 7P) avec ou sans variant d'épissage dû à l'utilisation d'un court site cryptique provoquant du saut du triplet du nucléotide qui code pour la glutamine.

Par ailleurs, les isoformes 5P, 6P et 6P longues de la caséine αs_1 avec un variant d'épissage ont été éluées en association avec la caséine αs2 10P, au niveau du pic 2 du chromatogramme du RP-HPLC/ESI-MS. Par contre, différentes isoformes (isoforme courte A, isoforme longue B, et isoforme longue B 1P) de la caséine αs_1 chez au moins deux

individus de lama on été identifiées dans quatre pics d'élution différents. Cette délétion de résidu est occasionnelle et a été observée la première fois chez la chèvre (Leroux el *al*., 1992). Cet événement peut jouer un rôle dans la structure et la stabilité des micelles des caséines puisque le Q78 est localisé dans la jonction entre le groupement polaire du résidu phosphoryle et le domaine hydrophobe de la protéine (Martin el *al*., 2013).

Chez le lama, la caséine β (-1P, -2P, -3P et -4P) avec ou sans variant d'épissages a été observée au dernier pic. La caséine β du dromadaire avec différents degrés de phosphorylations (2P, 3P, 4P) a été éluée en un pic majeur retardé ainsi qu'un variant d'épissage de cette protéine avec 4P. La phosphorylation des caséines est un phénomène post traductionnel qui se fait au niveau de l'appareil de golgi.

Quelques protéines du lactosérum ont pu être identifiées chez les deux Camélidés étudiés comme la lactoferrine, protéine qui réduit la prolifération cellulaires du cancer colorectal ainsi que ses effets antioxydants (Habib et *al*., 2013)

La sérum albumine a été identifiée chez le lama, ainsi que l'EGF 8. La présence de cette dernière dans la fraction soluble a été déjà observée dans le lait bovin (Mather et *al*., 2000).

Nous avons remarqué que l'α-lactalbumine chez le lama est plus hydrophobe que son homologue camelin, la différence de masse moléculaire de cette protéine est de 116 Da.

Cette partie nous a permis de supposer l'absence de la β-lactoglobuline chez le lama comme l'a signalé Jirimutu et *al* ., 2010.

Dans la deuxième partie de cette étude, nous avons analysé en premier lieu les protéines du lactosérum des Camélidés (Lama et dromadaire). De nouveau des différences significatives ont été observées au niveau de l'ordre d'élution des protéines surtout l'α-lactalbumine qui est toujours retardé chez le lama. Ces résultats nous ont conduit à passer à la combinaison de la Nano-LC-MS/MS avec le séquençage *de novo*. Cet outil nous a permis d'identifier deux mutations (R62L/I et K89L/I) au niveau de la séquence de l'α-lactalbumine du lama par rapport à celle du dromadaire. Cette mutation ainsi que celle observée par Cantisani et *al*., 1990, expliquent la différence de masse de 116 Da entre la masse moléculaire de l'α-lactalbumine du lama et celle du dromadaire.

En second lieu, nous avons réalisé une analyse fine des protéines du lactosérum du lait de dromadaire par utilisation de la technique d'électrophorèse bidimensionnelle suivie par la technique de spectrométrie de masse MALDI-TOF. Cette technique performante permettant

l'identification par l'empreinte peptidique massique et la discrimination des protéines camélines en montrant les modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation et la glycosylation, a été réalisée sur 85 spots qui ont été découpés du gel 2D et digérés à la trypsine mais seulement 49 ont été identifiés par empreinte de masse peptidique représentant dix protéines différentes. Les principales protéines obtenues sont : le sérum albumine, l'α-lactalbumine, la WAP, la lactoferrine et la PP3 avec sa forme hétérogène existant sous plusieurs isoformes qui sont dues à des modifications post traductionnelles et les traces des caséines qui restent solubles dans la fraction sérique. La lactadhérine, est apparue sous plusieurs isoformes avec un pI entre 6 et 7 dans la fraction soluble des protéines du lait de dromadaire analysé.

Par une approche immunologique, les immunoglobulines du lait de dromadaire ont été détectées par Western blot. Les immunoglobulines purifiées à partir du lait de dromadaire représentent une réactivité avec les anticorps secondaires « goat anti rabbit Ig G », « goat anti mouse Ig G M» et la protéine A et il est à noter que grâce à cette technique nous avons pu mettre en évidence que le lait de dromadaire contient des Ig G tout au long de la lactation.

La troisième et dernière partie de ce travail a été consacrée à la caractérisation des protéines de la membrane de globule gras du lait des camélidés. 322 et 187 protéines ont été identifiées au niveau de la membrane de globule gras du lait de dromadaire et du lama respectivement par LC-MS/MS. Les protéines majeures correspondent aux Fatty acid synthase (FAS), la xanthine oxydase (XO), la butyrophiline (BTN) et la lacthadhérine (LDH). L'ABGC2 (connue aussi sous le nom de BRCP, breast cancer resistance protein) et l'ABGC1 ont été aussi identifiées chez le dromadaire. Cette dernière protéine a été identifiée dans les régions basales et apicales dans les cellules mammaires et les globules gras du lait (Mani et *al*., 2011).

Les différentes protéines de la membrane de globule du lait de dromadaire et de lama analysées par SDS-PAGE ont le même niveau de migration et la lactadhérine apparait sous au moins deux isoformes chez ces deux espèces. L'amplification de la lactadhérine à partir des ARN du sang dedromadaire et de lama, a montré qu'on a un seul pic pour les deux espèces.

Les résultats de Western blot utilisant des anticorps spécifiques contre la lactadhérine bovine confirment la présence des trois chaines de la lactadhérine chez le dromadaire, de deux ou trois chez la jument, de trois ou plus chez la vache par contre une seule bande est observée chez le lait de la chèvre. Des études antérieures ont montré que plusieurs isoformes de cette

protéine ont été observées dans la glande mammaire et dans d'autres tissus (Giuffrida et *al*., 1998, Häggqvist et *al*., 1999, Oshima et *al*., 1999).

Nous pouvons conclure que la RP-HPLC est assez puissante pour permettre la détection du polymorphisme au niveau protéique. Cette étude nous a permis de caractériser de multiples isoformes de la caséine αs_1 issus de mécanismes d'épissages ainsi que la détermination des niveaux de phosphorylation des caséines chez les Camélidés. Le séquençage *de novo* a été utilisé dans notre étude pour détecter les mutations au niveau de la séquence de l'α lactalbumine du lama.

De même la technique du gel 2D, une technique performante, nous a permis de voir les différentes isoformes de la PP3 cameline. La LC-MS/MS nous a permis d'identifier les protéines totales du lait du lama et les protéines associées à la membrane de globule gras du lait de dromadaire ainsi que l'identification des partenaires moléculaires impliquées dans la sécrétion lipidiques ce qui pourrait aider à expliquer leur rôle au niveau de la glande mammaire.

Ce travail ouvre la voie à de nombreuses perspectives. Ainsi il serait intéressant de :

- Purifier la PP3 cameline et étudier ses vertus thérapeutiques.

- Mettre en valeurs les protéines de la membrane de globule gras identifiées chez les Camélidés et voir leurs effets thérapeutiques.

- Déterminer l'activité antimicrobienne de l'α-lactalbumine des Camélidés et étudier l'effet de substitutions des acides aminés dans la séquence de cette protéine du lama sur la composition du lactose dans le lait.

- Mettre en évidence la présence ou l'absence de la WAP et la PP3 chez le lama.

- Utiliser des approches génomiques pour amplifier les protéines du lait de lama afin de déterminer la séquence complète en acide aminés de ces protéines.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdallah, H.R & Faye., B. (2012). Phenotypic classification of Saudi Arabian camel (Camelus dromedarius) by their measurements. Emirates Journal of Food and Agriculture. 24: 272-280.

Abu-Lehia, I.H., Al-Mohizea, I.S., El-Behry, M. (1989). Studies on the production of ice-cream from camel milk products. Australian Journal of Dairy Technology . 44: 31-34.

Adlerova, L., Bartoskova, A & Faldyna M. (2008). Article Lactoferrin: a review. Veterinarni Medicina. 53: 457- 468.

Alhaider, A., Abdelgader, A.G ., Turjoman, A.A ., Newell, K., Hunsucker, S.W., Shan, B., Ma, B., Gibson, D.S., Duncan, M.W. (2013). Through the eye of an electrospray needle: mass spectrometric identification of the major peptides and proteins in the milk of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). Journal of Mass Spectrom. 48: 779-94.

Ali Khan, A & Alzohairy, M.A. (2011). Hepatoprotective effects of camel milk against CCl_4-induced hepatotoxicity in Rtas. Asian journal of Biochemeistry. 6: 171-180.

Ali Khan, A., Alzohairy, M.A. & Mohieldein, A.H. (2012). Antidiabetic effects of camel milk in streptozotocin-induced Diabetics Rats. American Journal of Biochemistry and molecular Biology. 3: 151-158.

Aloui Lombarkia, O., Ghennam, E.H., Bacha, A. & Abdededdaim, M. (2007). Caractéristiques physicochimiques et biochimiques du lait de chamelle et séparation de ses protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Rencontre Recherche. Ruminants. 14: 108.

Anderson M., Cawston T.E., Reviews of the progress of dairy science. (1975).The milk-fat globule membrane. Journal dairy research 42: 459-483.

Alshaikh, M.A & Salah, M.S. (1994). Effect of milking interval on secretion rate and composition of camel milk in late lactation. Journal dairy research. 61: 451-456.

Al-Swailem, A.M., Shehata, M.M., Abu-Duhier, F.M., Al-Yamani, E.J., Al-Busadah, K.A., Al-Arawi, M.S., Al-Khider, A.Y., Al-Muhaimeed, A.N., Al-Qahtani, F.H., Manee, M.M., Al-Shomrani, B.M., Al-Qhtani, S.M., Al-Harthi, A.S., Akdemir, K.C., Inan, M.S & Otu, H.H. (2010). Sequencing, analysis, and annotation of expressed sequence tags for *Camelus dromedarius*. PLoS One 5, e10720.

Alwan. A.A & Tarhuni, A.H. (2000). Prodc. Int. Camelid Conf., Almaty, kazakhstan. p100.

Anderson, M. (1974). Milk fat globule membrane composition and dietary change: supplements of coconut oil fed in two physical forms. Journal dairy research. 57: 399-404.

Anderson, M., Cawston, T.E. (1975). Reviews of the progress of dairy science. The milk-fat globule membrane. Journal dairy research. 42: 459-483.

Argawel, R.P., Jain, S., Shah, S., Chopra, A & Agarwal, V. (2011). Effect of camel milk on glycemic control and insulin requirement in patients with type 1 diabetes: 2-years randomized controlled trial. European Journal of Clinical Nutrition. 65: 1048-1052.

Argawel, R.P., Swami, S.C., Beniwal, R., Kochar, D.K., Sahani, M.S., Tuteja, F.C & Ghouri, S.K. (2003). Effect of camel milk on glycemic control, risk facrors and diabetes quality of life in type-1diabetes : A randomized prospective controlled study.J. Camel Pract. Res. 10: 45-50.

Asker, A.A., Hamzawi, L.F., Hagrass, A.E & Abd-El-Hamid, L.B. (1978). Studies on buffaloe's milk fat globule membrane. II. Seasonal variations. Egypt. J. Dairy Sci. 6: 63-67.

Atarhouch T., Bendahman N., Hamers-Casterman C., Hamers R., Muyldermans S. (1997). cDNA sequence coding for the constant region of the dromedary gamma3 heavy Chain antibody. J Camel Pract. Res. 4: 177-182.

Atmani, D., Baghiani, A., Harrison, R. & Benboubetra, M. (2005). NADH oxidation and superoxide production by Caprine milk Xanthine oxidoreductase. International Dairy Journal. 15: 1113-1121.

Azwai, S. M., Carter, S. D., Woldehiwet, Z. & Wernery, U. (1996). Serology of *Orthopoxvirus cameli* infection in dromedary camels: analysis by ELISA and Westernblotting. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 19: 65 78.

B

Baghiani, A., Arraf, L., Mansouri, F., Zouaoui, O & Benboubetra, M. (1999). Purification and partial characterization of camel milk xanthine oxidase. Premières Journées sur la Recherche Cameline, 25 au 27 mai, ITAS OUARGL. 150-156.

Baghiani, A., Harrison, R & Benboubetra, M. (2003). Purification and partial characterisation of camel milk xanthine oxidoreductase. Arch physiol Biochem. 111: 407-414.

Banghrat, L.R, Chamberlain, C.W., Velarde, J., Korobko, I.V., Ogg, S.L., Jack, L.J.W., Vakhariai, V.N & Mather, I.H. (1998). Butyrophimin is expressed in mammary epithelial cells from a single-sized messenger RNA as a type I membrane glycoprotein. The Journal of Biological Chemistry. 273: 4141-4179.

Battelli, M.G., Abbondanza, A & Stirpe, F. (1992). Effects of hypoxia and ethanol on xanthine oxidase of isolated rat hepatocytes: conversion from D to O form and leakage from cells. *Chem.-Biol. Interactions* 83: 73-84.

Battelli, M.G., Abbondanza, A., Tazzari, P.L., Bolognesi, A., Lemoli, R.M., Stirpe, F.(1992). T lymphocyte killing by a xanthine-oxidase-containing immunotoxin. 35: 421-425.

Baumrucker, C.R & Keenan, T.W. (1973). Membranes of mammary gland. VII. Stability of milkfat globule membrane in secreted milk. J. Dairy Sci. 56: 1092-1094.

Beg, O.U, Von Bahr-Lindstrom, H., Zaidi, Z.H & Jornvall, H. (1985). The primary structure of α-lactalbumin from camel milk. Eur. J. Biochem. 147: 233-239.

Beg, O.U., Van Bahr- lindstrom, H., Zaidi, Z.H & Jornvall, H. (1986). A camel milk whey protein rich in half-cysteine. Primary Structure, assessment of variations, internal repeat patterns, and relationhips with neurophysin and other active polypepetides. Eur. J. Biochem.159: 195-201.

Beitz, D.C., Mohrenweiser, H.W., Thomas, J.W. & Wod, W.A. (1969). Synthesis of milk proteins in a cell-free system isolated from lactating bovine mammary tissue. Archives of Biochemistry and Biophysics. 132: 210-222.

Bekele, T, Zekele, M & Baars, R.M.T. (2002). Milk production performance of the one humped camel (camelus dromedarius) under pastoral management in semi-arid eastern Ethiopia. Lives. Prod. Sci. 76: 37-44.

Bell, K., Hopper., K.E & Mckenzie, H.A. (1981). Bovine α-lactalbumin C ad αs1, β and κ-casein of Bali (Banteng) cattle Bos (Bibos) javanicus. Aust.J.Biol.Sci. 34: 149-159.

Bengoumi, M & Faye, B. (2002). Adaptation du dromadaire à la déshydratation. Revue Sécheresse.13: 121-129.

Bengoumi, M., Tabarani, A., Sghir, A., Faulconnier, Y., Faye, B & Chilliard, Y. (2005). Effects of feeding level on body weight, hump size, lipid content and adipocyte volume in the dromedary camel = Effet du niveau d'alimentation sur le poids vif, la taille, la teneur en lipides et le volume des adipocytes de la bosse chez le dromadaire .Animal Res. 54 : 383-393.

Benkerroum, N. (2008). Antiùicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk. African Journal of Biotechnology. 7. 25: 4856-4867.

Berglund L., Rasmussen, J.T., Andersen, M.D., Rasmussen M.S & Petersen T.E. (1996). Purification of the bovine xanthine oxidoreductase from milk fat globule membrane and cloning of complementary desoxyribonucleic acid. Journal of Dairy Science. 79: 196-204.

Bhattacharya, S.D., Roychoudhury, A.K., Sinha, N.K & Sen, A. (1963). Inherited α-lactalbumin and β-lactalbumin polymorphism in Indian Zebu cattel. Comparaison of Zebou and buffalo α-lactalbumin. Nature. 197: 797-799.

Bingham, E. W., Farrell, H. M & Basch, J. J. (1972). Phosphorylation of casein. Role of the Golgi apparatus. J. Biol. Chem. 247: 8193-8194.

Bingham, E.W., Farrell Jr, H.M & Bash J.J. (1972). Phosphorylation of casein, role of the golgi apparatus. The journal of biological Chemistry. 247: 8193-8194.

Boehm, G & Moro, G. (2008). Structural and functional aspects of prebiotics used in infant nutrition. J Nutr.138: 1818-28.

Bostrom, P., Andersson, L., Rutberg, M., Perman, J., Lidberg, U., Johansson, B. R., Fernandez-Rodriguez, J., Ericson, J., Nilsson, T., Boren, J & Olofsson, S.O. (2007). SNARE proteins mediate fusion between cytosolic lipid droplets and are implicated in insulin sensitivity. Nat Cell Biol. 9: 1286-1293.

Brandt, R., Pepperle, M., Otto, A., Kraft, R., Boehmer, F.D & Grosse, R. 1988. A 13-kilodalton protein purified from milk fat globule membranes is closely related to a mammary-derived growth inhibitor. Biochemistry. 27: 1420-1425.

Brenos, E, Girardet, J.M., Humbert,G & Linden, G. (1997). Role of the O-phosphoserine clusters in the interaction of the bovine milk αs1-β-κ caseins and the pp3 component with immobilized iron (III) ions. Biochimica. Biophys. Acta. 337: 149-159.

Brignon, G., Chtourou, A & Ribadeau-Dumas, B. (1985). Does beta-lactoglobulin occur in humain milk ? J Dairy Res. 52: 249-254.

Burdon, T., Wall, R.J. Shamay, A., Smith, G.H & Hennighausen, L. (1991). Over-expression of an endogenous milk protein gene in transgenic mice is associated with impaired mammary alveolar development and a milchlos phenotype. Machanisms of Development. 36: 67-74.

C

Cantisani, A., Napolitano, L., Giuffrida, M.G. & Conti A. (1990). Direct identification and charcterisation of Llama (lama glama L.) whey proteins by microsequencing after western blotting J. Biochem. Biophys. Methos. 21: 227-236.

Caroll, R.J., Thompson, M.P.& Farrell, Jr. H.M. (1970). Formation and structure of casein micelles in the lactating mammary tissue. 28th Annual Proceedings EMSA. 150-151.

Carroll, S.M., De Peters, E.J., Taylor, S.J., Rosenberg, M., Perez Monti, H & Capps, V.A. (2006). Milk composition of Holstein, Jersey, and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat. Anim. Feed Sci. Technol. 131: 451-473

Carter, D.C. & Ho,J.X. (1994). Structure of serum albumin. Adv. Protein Chem. 45: 153-203.

Cartier, P., Chillard, Y. & Paquet, D. (1990). Inhibiting and activating effect of skim milk and proteose-peptone fractions on spontaneous lipolysis and purified lipoprotein lipase activity in bovin milk. *J. Dairy Sci*. 73: 1173-1177.

Cayot, P & Lorient, D. (1998). Structure techno fonctions des protéines du lait. lavaoisier (Ed.). Paris, France.

Cebo, C. &Martin P. (2012). Inter-species comparison of milk fat globule membrane proteins highlights the molecular diversity of lactadherin. International Dairy Journal. 24: 70-77.

Cebo, C. (2012). Milk Fat Globule Membrane Proteomics: a “Snapshot” of Mammary Epithelial Cell Biology. Food Technol. Biotechnol. 50: 306-314.

Cebo, C., Caillat, H., Bouvier, F & Martin, P. (2010). Major proteins of the goat milk fat globule membrane. *Journal of Dairy Science*. 93: 868-876.

Cebo, C., Rebours, E., Henry, C., Makhzami, S., Cosette, P & Martin, P. (2012). Identification of Major Milk Fat Globule Membrane Proteins from Pony Mare’s Milk highlights the Molecular Diversity of Lactadherin across Species. *Journal of Dairy*. 95: 1985-1098.

Chandra N, BrewK & Acharya K.R. (1998). Structural evidence for the presence of a secondary calcium binding in human α.lactalbumin. Biochemistry. 37: 4797-4772.

Chat, S., Layani, S., Mahaut, C., Henry, C., Chanat, E. & Truchet, S. (2011). Characterisation of the potential SNARE proteins relevant to milk product release by mouse mammary epithelial cells. *European Journal of Cell Biology*. 90: 401-413.

Chatterton, D.E.W., Smithers, G., Roupas, P & Brodkorb, A. (2006). Bioactivity of β-lactoglobulin and α-lactalbumin-Technological implications for processing. International Dairy Journal. 16: 1229-1240.

Chichlowski, M., German, J.B., Lebrilla, C.B., Mills, D.A. (2011). The influence of milk oligosaccharides on microbiota of infants: opportunities for formulas. Annu Rev Food Sci Technol. 2: 331-351.

Chillard, Y. (1989). Particularités du metabolism des lipids et du méabolisme énergétique chez le dromadaire. Options méditerranéenes- Série Séminaires. 2 : 101-110.

Cho, J.H., Fraser, I.P, Fucase., Kusumoto S., Fujimoto, Y., Stahl, G.L & Ezekowitz, R A. (2005). Human peptidoglycan recognition protein is effectors of neutrophil-mediated innate. Blood. 106: 2552-2558.

Chobert, J.H & Haertle, T. (1997). Food Proteins and their applications. S. Damodaran and A. Para feds. Marcel Dekker, New York, NY.143-170.

Chong, B. M., Reigan, P., Mayle-Combs, K. D., Orlicky, D. J & McManaman, J. L. (2011(a)). Determinants of adipophilin function in milk lipid formation and secretion. Trends in Endocrinology and Metabolism. 22: 211-217.

Chong, B. M., Russell, T. D., Schaack, J., Orlicky, D. J., Reigan, P., Ladinsky, M., & McManaman, J. L. (2011(b)). The Adipophilin C Terminus Is a Self-folding Membrane-binding Domain That Is Important for Milk Lipid Secretion. Journal of Biological Chemistry.286: 23254-23265.

Chowanadisaia, W., Kelleher, S.L., Nemeth J.F., Yachetti, S., Kuhlman, C.F., Jackson, J.G, Davis. A.M., Lien, E.L & Lonnerdal, B. J. (2005). Detection of a single nucleotide polymorphism in the human α-lactalbumin gene: implications for human milk proteins . Journal of Nutritional Biochemistry.16: 272-278.

Conesa, C., Sanche, L., Rota, C., Perez, M, D., Calvo, M., Farnaud, S. & Evans, R.W. (2008). Isolation of lactoferrin from milk of different species: calormimetric and microbial studies. Comparative Biochemistry and Physiology, part B. 150: 131-139.

Conti, A., Godovac-Zimmermann, J., Napolitano, L. & Liberatori, J. (1985). Identification and characterization of two α-lactalbumins from Somali camel milk (*Camelus dromedarius*). Milchwissenschaft. 43: 299-302.

D

Dalgleish, D.G & Banks, J.M. (1991). The formation of complexes between serum proteins and fat globules during heating of whole milk. Milchwissenschaft. 46: 75-78.

Dandekar, A.M., Robinson, E.A., Appella, E. & Qasba, P.K. (1982). Complete sequence analysis of cDNA clones encoding rat whey phosphoprotein: homology to a protease inhibitor. 189 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 79: 3987-3987.

Danthine, S., Blecker, C., Paquot, M., Innocente, N. & Deroanne, C. (2000). Evolution des connaissances sur la membrane du globule gras du lait. Lait. 80: 209-222.

De Genst, E., Silence, K., Decanniere, K., Conrath, K., Loris, R., Kinne, J., Muyldermans, S & Wyns, L. (2006). Molecular basis for the preferential cleft recognition by dromedary heavy-chain antibodies. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103: 4586-4591.

De Simone, E.A**.,** Saccodossi, N**,** Ferrari, A & Leoni, J. (2008). Development of ELISAs for the measurement of IgM and IgG subclasses in sera from llamas (*Lama glama*) and assessment of the humoral immune response against different antigens. Vert Immunol Immunopathol. 15: 64-73.

Deeth, H.C. (1997). The role of phospholipids in the stability of milk fat globules. Aust. J. Dairy Tech. 52: 44-46.

Deffar, K., Shi1, H., Liang Li., Wang1, X & Zhu, X. (2009). Nanobodies - the new concept in antibody engineering. African Journal of Biotechnology. 8: 2645-2652.

Dewettinck, K., Rombaud, R., Thienpont, N., Trung Le, T., Messens, K & Van Camp, J. (2008). Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. Int. Dairy J. 18: 436-57.

Duhaiman, A.S. (1988). Purification of camel milk lysozyme and its lytic effect on *Escherichia coli* and *Micrococcus lysodeikticus*. *Comp*. *Biochem*. *Phys*. 91: 793-796.

Dull, T.J. Uyeda, C., Strosberg, A.D., Nedwin, G. & Seilhamer, J.J. (1990). Molecular cloning of cDNAs encoding bovine and human lactoperoxydase. DNA and cell Bio. 9: 499-509.

Duringer, C., Hamiche, A. Gustaffon, L., Kimura, H & Svanborg, C. (2003). HAMLET interacts with histones and chromatin in tumor cell nuclei. J Biol Chem. 278: 131-135.

E

Ebner K.E & Denton, B, U. (1968). Biological rolr of alpha lactalbumin: a review. J. dairy. Sci. 51: 317-322.

Egito, A.S., Girardet, J. M., Miclo, L., Molle D., Humbert G & Gaillard, J.L. (2001). Susceptibility of equine κ- and β-caseins to hydrolysis by chymosin. Int. Dairy.J. 11: 885-893.

El Agamy, E.I., Ruppanner, R., Ismail, A., Champagne, C.P & Assaf, R. (1996). Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. Int. Dairy J. 6: 129-145.

El Agamy, E.I., Ruppanner, R., Ismail, A., Champagne, C.P & Assaf, R. (1992). Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. Journal of Dairy Research. 59: 169-175.

El Fakhrani, E.M., Tabbl, A., Abd el Wahad, A., Haroun, B.M & Redwan E.R. (2008). Potential activity af camel milk amylase and lactoferrin against hepatitis C virus infection in HePG2 and lymphocytes. Hepatitis Monthly. 8: 101-109.

El Rashdy, M. R & Tabll, A. (2007). Camel lactoferrine markedly inhibits hepatits C virus genotype 4 infection of humain peripheral blood leukocytes. Journal of immunology Assay and Immunochemistry. 28: 267-277.

Elagamy, E.I. (2000). Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cow's and buffalo milk proteins. Food Chemistry. 68: 277-232.

El-Agamy, E. I. (1989). Biological activity of protective proteins of camel milk against pathogenic andnon-pathogenic bacteria and viruses. Ph.D. Thesis, Alexandria University, Alexandria, Egypt.

El-Agamy, E. I. (1994). Camel colostrum. II. Antimicrobial factors. Proceedings of the Workshop on Camels and Dromedaries as Dairy Animal, Nouakshott, Mauritania. 24-26 October. pp:177-180.

EL-Hatmi, H, Levieux, A & Levieux, D. (2006). Camel (Camelus dromedarius) immunoglobulin G, α-lactalbumin, serum albumin and lactoferin in colostrums and milk during the early post partum periode. Journal of Dairy Research. 73: 288-293.

El-Hatmi, H., Khorchani, T., Hammadi, M., Abdennebi, M. & Attia, H. (2003). Production et composition du lait de chamelle élevée dans le Sud Tunisien. Les filières lait en méditérranée : Enjeux pur un futur, EAAP Publication No 99 : 62-68.

EL-Hatmi, H., Levieux, A & Levieux, D. (2006(a)). Camel (*Camelus dromedarius*) immunoglobulin G, α-lactalbumin, albumin and lactoferrin in colostrum and milk during the early *post partum* period. *Journal of Dairy Research.*73: 288-298.

Etienne, L., Girardet, J.M. & Linden, G. (1994). Growth promotion of *Bifidobacterium animalis* by bovin milk proteose-pepton . Lait. 74: 313-323.

Evers, J.M & Palfreyman, K.R. (2001). Free fatty acid levels in New Zealand raw milk. Aust. J. Dairy Tech. 56: 198-201.

F

Farah Z., Rettenmaier, R & Atkins, D. (1992). Vitamin content of camel milk. Int.J. for vitamins nutrition Res. 62: 30-33.

Farah, Z & Ruegg, M. W. (1989). The size distribution of casein micelles in camel milk. Food Microstructure. 8: 211-216.

Farah, Z &Younan, M. (2005). Camel dairy in Eastern Africa: present state and future perspectives. In: Faye, B., Esenov, P. (Eds.), Desertification Combat and Food Safety. The Added Value of Camel Producers (NATO Science Series). IOS Press, Amsterdam, Netherlands. 173-180.

Farah, Z. (1986). Effect of heat treatment on whey proteins of camel milk. Milchwissenschaft. 41 : 763-765.

Farah, Z. (1993). Composition and characteristics of camel milk. Journal of Dairy research. 60: 603-626.

Farah, Z. (1996). Camel Milk. Property and products. SKAT, ST. Gallen, Switzerland.

Fauquant, C., Briard-Bion, V., Leconte, N., Guichardant, M., and Michalski, M.C. (2007). Membrane phospholipids andsterols in microfiltered milk fat globules. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 109:1167-1173.

Faye, B & Konuspayeva, G. (2012). The sustainability challenge to the dairy sector-The growing importance of non-cattle milk production worldwide.Revue. International Dairy Journal. 24:50-56.

Faye, B. (1997). Guide de l'élevage du dromadaire. CIRAD-EMVT, Montpellier, première Edition .126.

Faye, B. (2003). Performances et productivité laitières de la chamelle : les données de la littérature. Atelier sur la filière laitière cameline en Afrique. Niamey 5-8 Novembre. 7-14.

Faye, B., Bengoumi, M & Seboussi, R. (2006). Proc. Of Int. Scientific Conf. on camels (Part 4), Qassim Univ. (Publ.), 10-12 May 2006, Saudi Arabia. 1593-1615.

Faye, B., Konuspayeva, G., Messad, S & Loiseau G. (2008). Discriminant milk components of Bactrian camel (*Camelus bactrianus*), dromedary (*Camelus dromedarius*) and hybrids, Dairy Sci. Technol. 88: 607 - 617.

Fernandez, F.M & Oliver, G. (1992). Studies of α-lactalbumin in llama milk. Small Rumin.8: 97-106.

Ferranti, P. Malorni, A. Nitti, G., Lezza, P., Pizzano, R., Chianese, L.& Addo, F. (1995). Primary structure of ovine αs1-casein: localization of phosphorylation sites and characterization of genetics variants A,B,C and D. J. Dairy Res. 62: 281-296.

Figge, J., Rossing, T. H. & Fencl, V. (1991). The Role of serum-proteins in Acid-Base Equilibria. *J. Lab. Clin. Med.* 117: 453-467.

Fong, B. Y., Norris, C. S & MacGibbon, A. K. H. (2007). Protein and lipid composition of bovine milk-fat-globule membrane. Int. Dairy J. 17: 275-288.

Fong, B. Y., Norris, S.C & Palmano, K.P. (2008). Fractionnation of bovine whey proteins and characterization by proteomic charchteristics. International Dairy Journal. 18: 23-46.

Fox, P.F & Brodkorb, A. (2008). The casein micelle : Historical aspects, current concepts and significance. International Dairy Journal. 18: 677-684.

Fukuda, K., Yamamoto,A., Ganzorig, K., Khuukhenbaatar, J., Senda, A., Saito, T & Urashima, T. (2010). Chemical characterization of the oligosaccharides in Bactrian camel (Camelus bactrianus) milk and colostrum.J. Dairy Sci. 12: 5572-5587.

G

Gaye, P., Gautron, J.P., Mercier, J.C & Haz, G. (1977). Amino terminal sequences of the precursors of the ovine caseins. Biochemical and Biophysical Research Communications. 79: 903-911.

Giradet, J.M. & Linden, G. (1995). Structure of glycopeptides isolated from bovin milk component PP3. *Eur. J. Biochem*. 234: 939-946.

Girardet, J,M., N'negue, M,A., Egito1, A, S. & Campagna, S. Lagrange, A., Gaillard, J, L. (2004). Multiple forms of equine a-lactalbumin: evidence for N-glycosylated and deamidated forms International Dairy Journal. 14: 207-217.

Girardet, J. M., Saulnier, F., Gaillard, J.L., Ramet, J.P & Humbert, G. (2000). Camel (*Camelus dromedarius*) milk PP3 : evidence for an insertion in the amino-terminal sequence of the camel milk whey protein. *Biochem. Cell. Biol*, 78: 19-26.

Giuffrida, M.G., Cavaletto, M., Giunta, C., Conti, A. and Godovac-Zimmermann, J. (1998). Isolation and characterization of full and truncated forms of human breast carcinoma protein BA46 from human milk fat globule membranes. *J. Protein Chem.* 17: 143-148.

Göbel, B. (2001). The symbolism of llama breeding in North-Western Argentina. In Progress in South American Camelids Research. Proc. 3rd Eur. Symp. South Am. Camelids and SUPREME European Seminar, 27–29 May 1999, Go¨ttingen, Germany. EAAP publication No. 105. M. Gerken and C. Renieri, ed. Wageningen Press, Wageningen, the Netherlands. 175–180

Godovac-Zimmermann, J., Shaw, D., Conti, A & Mc Kenzie, H. (1987). Identification and the primary structure of equine alpha-lactalbumin B and C (Equus caballus, Perissodactyla); J. Biol.Chem. Hoppe Seyler. 368: 427-433.

Gorban, A.M.S. & Izzedin, O.M . (1997). Mineral content of camel milk and colostrums.J. Dairy Res. 64: 471-474.

Gouda, J., El Zayat, A. & El-shabrawy, S.A. (1984). Electron microscopy study on the size distribution of caseins micelles, fat globule membrane of camel milk. Annals of Agricultural Science. Ain Shams University, Egypt. 29 : 755-792.

Goudédranche, H., Fauquant, J & Maubois, J.L. (2000). Fractionnation of globular milk fat by membrane microfiltration. Lait. 80: 93-98.

Grabowski, H., Le Bars, D., Chene, N., Attal, J., Malienou-Ngassa, R. Puissant, C & Houdebine L.M. (1991). Rabbit whey acidic protein concentration in milk, serum, mammary gland extract, and culture medium.J Dairy Sci. 74: 4143-4150.

Green, M.R & Pastewka, J.V. (1976). Charachterization of major milk proteins from BALB/c and C3H mice. J Dairy Sci. 59: 207- 215.

Grobler, J.A., Wang, M., Pike, A.C & Brew, K. (1994). Study by mutagenesis of the roles of of Two Aromatic Clusters of α-Lactalbumin in Aspects of Its Action in the Lactose Synthase System. Journal of Biological Chemistry. 269: 5106-5114.

Grosclaude , F., Mahé, M.F. & Ribadeau-Dumas, B. (1973). Structure primaire de la caséine αs1 et de la caséine β bovine. Eur. J. Biochem. 40: 323-324.

Grosclaude, F., Joudrier, P. & Mahe, M.F. (1979). A genetic and biochemical analysis of a polymorphism of bovine alpha S2-casein. J Dairy Res. 46 : 211-213.

H

Habib, H.M., Ibrahim, W.H., Schneider-Stock, R & Hassan, H.M. (2013). Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. Food Chem. 1: 141-148.

Haga, M., Yamauchi, K& Aoyagi, S. (1983). Conformation and some properties of bovine αs2 group casein. Agric. Biol. Chem, 47: 1467-1471.

Häggqvist, B., Näslund, J., Sletten, K., Westermark, G.T., Mucchiano, G., Tjernberg, L.O., Nordstedt, C., Engström, U. and Westermark, P. (1999). Medin: an integral fragment of aortic smooth muscle cell-produced lactadherin forms the most common human amyloid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96: 8669-8674.

Hajjoubi, S., Rival-Gervier, S., Hayes, H., Floriot, S., Eggen, A., Piumi, F., Chardon, P., Houdebine, L,M & Thépot, D. (2006). Ruminants genome no longer contains Whey Acidic Protein gene but only a pseudogeneGene. 370: 104-112.

Hambling, S., McAlpine, A & Sawyer, L. (1992). β-Lactoglobulin. in: Advanced Dairy Chemistry -1 Proteins. Fox, RR (Ed.), Elsevier Appl. Sci., London, p. 141-190.

Hambraeus, L. (1992). Nutritional aspects of milk proteins. Advanced Dairy Chemistry-1 Proteins, Fox, F., London.

Hamers-Casterman, C, Atarhouch, T, Muyldermans, S, Robinson G, Hamers C, Songa EB, Bendahman, B. & Hamers, R. (1993). Naturally occurring antibodies devoid of light chains. Nature.363: 446-448.

Hassan, A.A., Hagrass, A.E., Soryal, K.A & El-Shabrawy, S.A. (1987). Physicochemical properties of camel milk during lactation period. *Egyptian J. Food Sci*. 15: 1-14.

Heid, H.W & Keenan, T.W. (2005). Intracellular origin and secretion of milk far globules. European Journal of cellular Biology. 84: 245-258.

Herren, U.J. (1933). Cash from milk : the impact of commercial camel milk sales on Garre and Gaaljacel camel pastoralism in Southern Somalia. Dans Anders Hjort af Ornäs (éd.), The multi- purpose camel : interdisciplinary satudies on pastoral production in Somalia. EPOS publ., Uppsala University, Suède: 57-74.

Hettinga, K., Van Valenberg, H., De Vries, S., Boeren, S., Van Hooijdonk, T., Van Arendonk, J & Vervoort, J. (2011). The Host Defense Proteome of Human and Bovine Milk. *PLoS ONE.* 6: 19433.

Hill, R.L., Brew, K., Vanaman, T.C., Trayer, I.P. & Mattock, P. (1968). The structure, function, and evolution of alpha-lactalbumin. Brookhaven Symp Biol. 21: 139-154.

Hoagland, D.P., Unruh J.J., Wickham E.D & Farrell, Jr. H.M. (2001). Secondary structure of bovine αs2-casein : theoretical and experimental approaches. J. Dairy Sci. 84: 1944-1949.

Holt, C. (1992). Structure and stability of bovine casein micelle. Adv. Prot. Chem, 43:63-151.

Houlihan, A.V., Goddard, P.A., Nottingham, S.M., Kitchen, B.J., Masters C.J. (1992). Interactions between the bovine milk fat globule membrane and skim milk components on heating whole milk. J. Dairy Res. 59: 187-195.

Huang, T.C., Kuksis, A. (1967). A comparative study of the lipids of globule membrane and fat core and of the milk serum of cows. Lipids. 2: 453-460.

Hvarregaard, J., Andersen Lars Berglund, M. H., Rasmussen, J. T. & Petersen, T. E. (1996). Characterization of Glycoprotein PAS-6/7 from Membranes of Bovine Milk Fat Globules. European Journal of Biochemistry. 240:628-636.

I

Ismaïl, M.D & Al-Mutaïri S.E. (1998). Milk production potential of dairy camels in Northern Saudi Arabia. Dans Dromadaires et chameaux, animaux laitiers: actes du colloque de Nouakchott, Mauritanie, 24-26 octobre 1994, Coll. Colloques, CIRAD, Montpellier, France. 35-40.

J

Jarasch, E.D., Grund, C., Bruder, G., Heid, H.W., Keenan, T.W. & Franke, W.W. (1981). Localization of xanthine oxidase in mammary-gland epithelium and capillary endothelium. *Cell.* 25: 67-82.

Jirimutu, Li, J., Alam, M.S., Li, H., Guo, M. & Zhang, H. (2010). Fatty acid and protein profiles, and mineral content of milk from the wild Bactrian camel (*Camelus bactrianus ferus*) in Mongolia. Milchwissenschaft. 65: 21–25.

Johsen, L.B., Sorensen, E.S., Petersen, T.E & Berglund, L. (1995). Characterization of a bovine mammary gland PP3 Cdna reveals homoly with mouse and rat adhesion molecule Glycam-1. Biochim. Biophys. Acta. 1260: 116-118.

K

Kadwell, M., Fernandez, M., F.Stanley,H., Baldi, R., Wheeler, J.C., Rosadio, R & Bruford, M.W. (2001) Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. Proceedings of the royal society of london series B-BILOGICAL SCIENCES. 268: 2575-2584.

Kaminogawa S., McKenzie H.A. & Shaw D.C. (1984). The amino acid sequence of equine α-lactalbumin. Biochemistry International. 9: 539-546.

Kamoun, M. (1995). Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. CIHEMA. Options méditerranéennes : Série B. Etudes et recherché. 13: 81-103.

Kappeler, S., FARAH Z. & PUHAN, Z. (1999(a)). Alternativ splicing of lactophorin mRNA lactating mammary gland of the camel (*Camelus dromedarius*). *J. Dairy Sci*. 82: 2084-2093.

Kappeler, S., Farah, Z & Puhan, Z. (1998). Sequence Analysis of *Camelus dromedarius* milk caseins. Journal of Dairy Research. 65: 206-222.

Kappeler, S., Manfred, A., Farah, Z. and Puhan, Z. (1999(b)). Sequence Analysis of camel milk (*Camelus dromedarius*) lactoferrin. *Int. Dairy J*. 9: 481-486.

Kappeler, S.R (1998). Compositional and structural analaysis of camel milk proteins with emphasis on protective proteins. PhD Thesis, Siss federal Institue of technology. Zurich, Switzerland. 136.

Kappeler, S.R., Farah, Z. & Puhan, Z. (2003). 5'- flanking Regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of the other species and can be divided into two distinct groups.J. Dairy Sci. 86: 498-508.

Kappeler, SR., Heuberger, C., Farah, Z & Puhan, Z. (2004). Expression of the peptidoglycan recognition protein, PGRP, in the lactating mammary gland. J Dairy Sci. 87: 2660-2668.

Karray, N., Lopez C., Ollovon, M., & Attia, H. (2005). La matière grasse du lait de dromadaire: composition, microstructure et polymorphisma. Oléagineux , Corps gras, Lipides. 12: 439-446.

Karray, N., Lopez, C., Lesieur, P & Ollivon, M. (2004). Dromedary milk fat: thermal and structural properties 1. Crystalline forms obtained by slow cooling. Lait: 84: 399-416.

Kayouli C., Jouany J.P &Ben Amor J. (1991). Comparison of microbial activity in the forestomachs of the dromedary and the sheep measured in vitro and in sacco on mediterranean roughages. Anim. Feed Sci. Technol. 33: 237.-245.

Keenan, T. W & Mather, I. H.(2006). Intracellular origin of milk fat globules and the nature of the milk fat globule membrane. In P. F. Fox, & P. L. H. McSweeney (Eds.), Advanced dairy chemistry. Lipids (3rd ed.). 2: 137-171.

Keenan, T. W. & Dylewski, D. P. (1995). Intracellular origin of milk lipid globules and the nature of structure of milk fatglobule membrane. In: Advanced dairy chemistry-Lipids. Fox P.F. (ed) Chapman and Hall, London. 2: 89-130.

Keenan, T.W., Mather, I.H., Dylewski, D.P. (1998). Physical equilibria: lipid phase. *In*: Fundamentals of Dairy Chemistry (ed. N.P. Wong).Van Nostrand Reinhold Co., New York. 511-582.

Kenzhebulat, S., Ermuhan, B & Tleuov, A. (2000). Composition of camel milk and it's use in the treatment of infectious diseases in human. In: Proceedings of the 2nd Camelid Conference on Agroeconomics of Camelid Farming, Almaty, Kazakhstan, September 8–12, AgroMerkur Publ., p. 101.

kester.J.J & Brunner, J.R. (1982). Milk Fat-Globule Membrane as Possible Origin of Proteose-Peptone Glycoproteins. Dairy Sci. 65: 2241-2252.

Khanna, N.D., Sahani, M.S & Rai, A.K. (1998). The camel as a milk animal in Indian experience. Dans Dromadaires et chameaux, animaux laitiers: actes du colloque de Nouakchott, Mauritanie, 24-26 octobre 1994, Collection Colloques, CIRAD, Montpellier, France. 95-100.

Kherouatou, N. (2004). La micelle du lait camelin: caractérisation physicochimique rhélogique, biochimique et technofonctionnelle. Thèse de doctorat, ENIS, Sfax, Tunisie. 201.

Kolar, C.K. & Brunner, J.R. (1969). Proteosepeptone fraction of bovine milk: distribution in the protein system. *J. Dairy Sci.* 52: 1541-1546.

Kolar, C.K. & Brunner, J.R. (1970). Proteosepeptone fraction of bovine milk: lacteal serum component 5 and 8-casein associated glycoproteins. *J. Dairy Sci.* 53:997-1008.

Kontopidis, G., Holt,C. & Sawyer, L. (2002). The Ligand-binding Site of Bovine β - Lactoglobulin: Evidence for a Function? J. Mol. Biol. 318: 1043-1055.

Konuspayeva, G. (2007). Variabilité physicichimique et biochimique du lait des grands camélidés (*Camelus bacterianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan, Ph.D. Thesis. Université Montpellier II. France. 255.

Konuspayeva, G., Faye, B & Loiseau, G. (2009). The composition of camel milk : A meta-analysis of the literature data. Journal of Food Composition and Analysis. 22: 95-101.

Konuspayeva, G., Faye, B & Serikbaeva, A. (2003) Les produits laitiers traditionnels à base de lait de chamelle en Asie Centrale Actes de l'Atelier Internationale sur le lait de chamelle en Afrique. FAO-CIRAD-KARKARA, 5-8/11/03, Niamey (Niger).Rome, Italy: FAO Publishing. 71-82.

Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G., Namuratova, M., Ivashchenko, A., Meldebekova, A & Davletov., S. (2010). Physiological change in camel milk composition (Camelus dromedarius) 1. Effect of lactation stage. Trop Anim Health Prod. 42: 495-499.

Konuspayeva, G., Loiseau, G & Faye, B. (2004). La plus value "santé" du lait de chamelle cru et fermenté: l'espérience du Kazakhstan. Rencontre Recherche Ruminants. 11: 47-50.

Konuspayeva, G., Loiseau, G & Faye, B. (2004). La plus-value « santé » du lait de chamelle cru et fermenté : l'expérience du kazakhstan. Ranc. Rech. Ruminants. 11 : 47-50.

Kuwabara, Y., Nishino, T., Okamoto, K., Matsumara, T., Eger, B.T., Pai, E.F & Nishino, T. (2003). Unique amino acids cluster for switching from the dehydrogenase to oxidase form of xanthine oxidoreductase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100: 8170-8175.

Kwapinski, J. B. G. Ed., University Park Press,Baltimore. 93-183.

L

Larsson-Raznikiewicz, M & Mohamed, M.A. (1986). Analysis of the casein contents in camel (*camelus dromedarius*) milks. Swed.J. Agric.Res. 16: 13-18.

Lee, S.J & Sherbon, J.W. (2002). Chemical changes in bovine milk fat globule membrane caused by heat treatment and homogenization of whole milk. J. Dairy Res. 69: 555-567.

Leroux, C., Mazure, N & Martin, P. (1992). Mutations away from splice site recognition sequences might cis-modulate alternative splicing of goat alpha s1-casein transcripts. Structural organization of the relevant gene. *J Biol Chem.* 267: 6147-6157.

Levieux, D., Levieux, A.,El-Hatmi, H & Rigaudière, J.P. (2006). Immunochemical quantification of heat denaturation of camel (*Camelus dromedarius*) whey proteins. Journal of Dairy Researche. 73:1-9.

Liao, Y., Alvarado, R., Phinney, B., Lönnerdal, B. (2011). Proteomic characterization of human milk fat globule membrane proteins during a 12 month lactation period. J Proteome Res. 5: 3530-3541.

Lopez, C. (2010). Lipid domains in the milk fat globule membrane: Specific role of sphingomyelin. Lipid Technol. 22: 175-178.

Louisot, P. (1983). Biochimie Générale et médicale: structurale, Métabolique et Séméiologique. SIMEP, Paris, France.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L & Randall, R.J (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J.Biol.Chem. 193: 265-275.

Lu,.X., Wang, M., Wang, J., Gupta, X. & Dziarski, R. (2006). Peptidoglycan recognition proteins are a new class of human bactericidal proteins. Journal of Biology and chemistry. 281: 5895-5907.

M

MacManaman, J. L., Russel, T. D., Schaack, J., Orlicky, D. J & Robenek, H. (2007). Molecular determinants of milk lipid secretion. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 12: 259-268.

Magjeed, N.A. (2005). Corrective effect of milk camel on some cancer biomarkers in blood of rats intoxicated with aflatoxin B1. Journal of the Saudi Chemical society 9: 253–263.

Mal, G., Sena, D.S., Jain, V.K & Sahani, M.S. (2006). Therapeutic value of camel milk as a nutritional supplement for multiple drug resistant (MDR) tuberculosis patients. Israel Journal of Veterinary Medicine. 61: 88-91.

Mal, G., Suchitra Sena., D., Jain., V.K., Singhvi., N.M & Sahani, M.S.(2000). Prodc. Int. Camelid Conf., Almaty, kazakhstan. 99.

Malinovskii, V.A., Tian, J., Grobler, J.A. & Brew, K. (1996). Functional Site in α-lactalbumin Encompasses a Region Corresponding to a Subsite in Lysozyme and Parts of Two Adjacent flexible substructures. Journal of biochemistry. 35: 9710-9715.

Mani, O., Korner, M., Ontsouka, C. E., Sorensen, M. T., Sejrsen, K., Bruckmaier, R. M & Albrecht, C. (2011). Identification of ABCA1 and ABCG1 in milk fat globules and mammary cells- Implications for milk cholesterol secretion. *Journal of Dairy Science.* 94 : 1265-1276.

Marín, J. C., Zapata B., González B. A., Bonacic C., Wheeler J. C., Casey C., Bruford M. W., Palma R. E., Poulin E., Alliende M. A. & Spotorno Á. E. (2007). Systematics, taxonomy and domestication of alpaca and llama: new chromosomal and molecular evidence. Revista chilena de historia natural. 80 : 121-140.

Marotta, D., Gerald, N & Dwyer, D. (2006). Rab5b localization to early endosomes in the protozoan human pathogen Leishmania donovani. *Molecular and Cellular Biochemistry. 292*: 107-117.

Martin, P & Leroux, C, (1992). Exon-skipping is responsible for the 9 amino acid residue deletion occurring near the N-terminal of human beta-casein. Biochem. Biophys. Res. Commun. 183: 750-757.

Martin, P., Cebo, C & Miranda, G. (2013). Interspecies Comparison of Milk Proteins: Quantitative Variability and Molecular Diversityin: McSweeney, P. L. H., Fox, P. F. (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry*, Springer US. 387-429.

Martin, P., Ferranti, P., Leroux, C & Addeo, F. (2003). Non-bovine caseins: a quantitative variability and molecular diversity. In Advanced Dairy Chemistry - Volume 1 - Proteins - Third edition - Part A: Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H.

Martinez-Ferez, A., Rudloff, S., Guadix, A., Henkel, C.A., Pohlentz, G., Boza, J.J., Guadix, E.M & Kunz,C. (2006). Goats milk as a natural source of lactose-derived oligosaccharides: Isolation by membrane technology. International Dairy Journal. 16: 173-181.

Martini, M., Cecchi, F., Summer, A & Scolozzi C. (2004). Ragusa, Italie. 6th International Meeting on Mountain Cheese.

Masuoka, N & Kubo, I. (2004). Characterization of xanthine oxidase inhibition by anacadic acids. *Biochimica et Biophysica Acta* 1688: 245-249.

Matéos, A., Girardet, J., Mollé, D., Corbier, C., Gaillard JL 1 Laurent., M. (2010). Identification of phosphorylation sites of equine *β*-casein isoforms *Rapid Commun Mass Spectrom.* 24: 1533-1542.

Mather, I. H & Keenan, T. W. (1998). Origin and secretion of milk lipids. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia. 3: 259-273.

Mather, I.H. (2000). A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. Journal of Dairy Science. 83: 203-247.

Mather, I.H., Weber, K. & Keenan, T.W. (1977). Membranes of mammary gland: XII. Lossely associated proteins and compositional heterogeneity of bovine milk fat globule membrane. Journal of Dairy Science. 60: 394-402.

Mati, A., Girardey, J.M., Xenakis, D. & Linden, G. (1991). Isolement et caractérisation de la fraction hydrophobe des protéose- peptones du lait bovin, ovin et caprin. Lait. 71: 259-273.

Mati, A., Moulti-Mati, F., Girardet, J.M., Belleville-Nabet, F., Nabet, P & Linden, G. (1993). Mitogenic Activity of Hydrophobic fractions of Proteose-peptone from cows, ewes and goats milk mesured with MARKS 3 hybridoma culture. *J.Dairy Res*. 60 : 443-448.

Mburu, D.N., J.W. Ochieng, S.G. Kuria, H. Jianlin, B. Kaufmann, O. Reger & Hanotte, O. (2003). Genetic diversity & relationships of indigenous Kenyan camel populations: implications for their classification. Animal Genetics. 34: 26-32.

McPherson, A.V & Kitchen, B.J. (1983). Reviews of the progress of dairy science: The bovine milk fat globule membrane – its formation,composition, structure and behaviour in milk and dairy products. J. Dairy Res. 50: 107-133.

Medhammar, E., Wijesinha-Bettoni, R., Stadlmayr, B., Nilsson, E., Charrondiere, U.R & Burlingame, B. (2012). Composition of milk from minor dairy animals and buffalo breeds: a biodiversity perspective. J Sci Food Agric. Review. 92: 445-474.

Mehaia, M.A. (1994). Vitamin C and riboflavin content in camels milk, effects of heat treatments. Food chem. 50: 153-155.

Mehaia, M.A., Hablas, M.A., Abdel-Rahman, K.M. & El-Mougy, S.A. (1995). Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chem*. 52: 115-122.

Mercier, J. C. (1981). Phosphorylation of caseins, present evidence for an amino acid triplet code posttranslationally recognized by specific kinases. *Biochimie.* 63: 1-17.

Mercier, J. C., Chobert, J.M & Addeo, F. (1976). Comparative study of the amino acid sequences of the caseinomacropeptides from seven species. FEBS Lett. 72: 208.

Mercier, J.C & Gaye, P. (1980). Study of secretory lavtoproteins : Primary structures of the signals and enzymatic processing. Annals of the New York Academy of Sciences. 343: 232-251.

Merin, U., Bernstein, S., Bloch-Damti, A., Yagil, R., Van Creveld, C., Linder, P & Gollop, N. (2001). A comparative study of milk serum proteins in camel (Camelus dromedarius) and bovine colostrum. Livestock Production Science. 67: 297-301.

Michaelidou, A., Steijns, J. (2006). Nutritional and technological aspects of minor bioactive components in milk and whey: Growth factors, vitamins and nucleotides. International Dairy Journal. 16: 1421-1426.

Miranda, G., Mahe, M., Leroux, C., Martin, P. (2004). Proteomic tools to characterize the protein fraction of Equidae milk. *Proteomics.* 4 : 2496-2509.

Mok, K.H., Pettersson, J., Orrenius, S & Svanborg, C. (2007). Hamlet, protein folding, and tumor cell death. Biochemical and biophysical research communications. 354: 1-7.

Montagne, L., Girardet, J.M & Humbert, G. (1999). Amino-terminal sequencing of the ovine milk fat globule membrane protein butyrophilin. Lait. 79: 275-279.

Morgan, P E, Treweek, T.M., Lindner, R.A., Price, W.E & Carver, J.A. (2005). Casein as molecular chaperones. J. Agric.Food Chem. 53: 2670-2683.

Morin, D. E., Rowan, L. L., Hurley, W. L & Braselton, W. E. (1995 (a)). Composition of Milk from Llamas in the United States. Journal of Dairy Science. 78(8):1713-1720.

Morin, DE., Rowan, L.L. & Hurley, W.L. (1995(b)). Comparative study of proteins, peroxidase activity and N-acetyl-β-D-glucosaminidase activity in llama milk. Small Ruminant Research. 17: 255-261.

Morrow, A.L., Ruiz-Palacios, G.M., Altaye, M., Jiang, X., Guerrero, M.L., Meinzen-Derr, J.K. Farkas, T., Chaturvedi, P., Pickering, L.K & Newburg, D.S. (2004). Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants. J.Pediatre. 145: 297-303.

Moslah, M. (1998). La production laitière du dromadaire en Tunisie. Actes du colloque “Dromadaires et chameaux, animaux laitiers”, 24-26 octobre 1994, Nouakchott, Mauritanie. 61-65.

Murphy, S., Martin, S & Parton, R. G. (2009). Lipid droplet-organelle interactions; sharing the fats. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids. 1791: 441-447.

N

Nagy, P., Skidmore, J.A & Juhasz, J. (2013). Use of assisted reproduction for the improvement of milk production in dairy camels (*Camelus dromedarius*). Animal reproduction science. 136: 205-210.

Ng, W.S., Brunner, J.A & Rhee K.C. (1970). Proteose-peptone fraction of bovine milk : lactoserum component 3-A whey glycoprotein. *J. Dairy Sei.* 53: 987-996.

Nielsen, E., Severin, F., Backer, J. M., Hyman, A. A & Zerial, M., Rab5 regulatesmotility of early endosomes on microtubules. (1999). Nat Cell Biol 1: 376-382.

Noyelle, K & Van Dael, H. (2002). kinetics of conformational changes induced by the binding of varoius metal ions to bovine [alpha]-lactalbumin. Journal of inorganic biochemistry. 88: 69-76.

Nukumi, N., Iwamori, T., Kano, K., Naito, K & Tojo, H. (2007). Whey acidic protein (WAP) regulates the proliferation of mammary epithelial cells by preventing serine protease from degrading laminin. Journal of cellular physiology 213: 793-800.

O

Ochirkhuyag, B., Chobert, J. M., Dalgalarrondo, M., Choiset, Y. & Haertle, T. (1997). Characterization of caseins from Mongolian Yak, Khanak and Bacterian camel. Lait? 77: 601-613.

Ochirkhuyag, B., Dalgalarrondo, M., Chobert, J.M., Choiset, Y., Haertle, T. J. (1998). Characterization of whey proteins from Mongolian Yak, Khainak, and Bactrian Camel. J. Food Biochemistry. 22:105-124.

Oshima, K., Aoki, N., Negi, M., Kishi, M., Kitajima, K &Matsuda, T. (1999). Lactation-dependent expression of an mRNA splice variant with an exon for a multiply *O* -glycosylated domain of mouse milk fat globule glycoprotein MFG-E8. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 254: 522-528.

Ould Ahmed, M., Ben Salem, F., Bedhiaf, Sonia & M'Naouer, D. (2010). Analyse moléculaire de la diversité génétique des dromadaires (*Camelus dromedarius*) en Tunisie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14 : 399-408.

Ouled Ahmed, M. (2009) Thèse de doctorat en Sciences agronomiques : Caractérisation de la population des dromadaires (*Camelus dromedarius*) en Tunisie.

Ozeki, S., Cheng, J., Tauchi-Sato, K., Hatano, N., Taniguchi, H., and Fujimoto, T. (2005). Rab18 localizes to lipid droplets and induces their close apposition to the endoplasmic reticulum-derived membrane. *Journal of Cell Science.* 12: 2601-2611.

P

Page, S., Powell, D., Benboubetra, M., Stevens, C.R., Blake, D.R., Selase, F., Wolstenholme, A.J & Harrison, R. (1998). Xanthine oxidoreductase in human mammary epithelial celles: activation in response to inflammatory cytokines. Biochimica et Biophysica Acta. 1381: 191-202.

Pallesen, L.T., Berglund, L., Ramussen, L.K., Petersen T.E. & Ramussen, J.T. (2002). Isolation characterization of MUC 15, a novel cell membrane associated mucin. European Journal of Biochemistry. 269: 2755-2763.

Pan Y., Lee A., Wan J., Coventry M.J., Michalski W.P., Shiell & BRoginski H. (2006). Antiviral properties of milk proteins and peptides: review. International Dairy Journal. 6: 1252-1261.

Paquet, D. (1989). Revue bibliographique : la fraction protéose-peptones du lait. Lait. 69: 1-21.

Pasher, P., Nivorozhkin, A & Szabó. (2006). Therapeutic effects of Xanthine Oxidas Inhibitors : Renaissance Half a Centry after the Discovery of Allopurinol. Pharmacol.Rev.58: 87-114.

Patton, S & Muller, L.D. (1992). Genetic polymorphism of the epithelial mucin, PAS-I, in milk samples from the major dairy breeds. Journal of Dairy Science. 75: 863-867.

Peaker, M. (1980). The effects of raised intramammary pressure on mammary function in the goat in relation to the cessation of lactation. Journal of Physiology. 301: 415-428.

Pellegrini, A., Thomas, U., Bramaz, N., Hunziker, P. & von Fellenberg, R. (1999). Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine alpha-lactalbumin molecule. Biochim Biophys Acta .1426 (3): 439-448.

Permyakov, E. & Berliner, L. (2000). Alpha-Lactalbumin: Structure and function. FEBS Letters. 473: 269-273.

Peters, J & Driesch, A. (1997) The two-humped camel (*Camelus bactrianus*): new light on its distribution, management and medical treatment in the past. J. Zool. 242: 651-679.

Pherson, Mc & Kitchen, B.J. (1983). Review of the progress of dairy science: the bovine milk fat globule membrane: its formation, composition, structure and behavior in milk and dairy products. Journal of Dairy Reserch. 50: 107-133.

Pisanu, S., Ghisaura, S., Pagnozzi, D., Biosa, G., Tanca, A., Roggio, T., Uzzau, S & Addis, M. F. (2011). The sheep milk fat globule membrane proteome. Journal of Proteomics. 74: 350-358.

R

Ramet, J.P. (1987). Production de fromages à partir de lait de chamelle en Tunisie. Mission Report. Rome FAO. 1-33.

Ramussen, L.K., Hojrup, P & Petersen, T E. (1992). Localisation of two inetrchain disulfide bridges in dimmers of bovine αs2-casein. Paralle and antiparallel aligments of the polypeptides chains. Eur.J. Biochem. 203: 381-386.

Raymond, A., Ensslin, M.A & Shur, B.D. (2009). SED1/MFG-E8: a bimotif protein that orchestrates diverse cellular interactions. J Cell Biochem 106: 957-966.

Reinhardt, T. A & Lippolis, J. D. (2008). Developmental changes in the milk fat globule membrane proteome during the transition from colostrum to milk. Journal of Dairy Science. 91: 2307-2318.

Reinhardt, T. A. & Lippolis, J. D. (2006). Bovine milk fat globule membrane proteome. J. Dairy Res. 73: 406-416.

Ribadeau-Dumas, B.& Grappin,R. (1989). Milk protein analysis. Lait. 69: 357-416.

Ribadeau-Dumas, B., Brigon, G., Grosclaude, F0.1 Mercier J.C. (1972). Structure primaire de la caséine β bovine, Séquence complète. Eu.J. Biochem. 25 : 505-514.

Riccio, P. (2004). The proteins of the milk fat globule membrane in the balance. Trends Food Sci. Technol. 15: 458-461.

Riek, A. & Gerken, M. (2006). Changes in Llama (Lama glama) Milk Composition During Lactation. Journal of Dairy Science. 89: 3484-3493.

Robenek, H., Hofnagel, O., Buers, I., Lorkowski, S., Schnoor, M., Robenek, M. J., Heid, H., Troyer, D & Severs, N. J. (2006). Butyrophilin controls milk fat globule secretion. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 103: 10385-10390.

Robenek, H., Hofnagel, O., Buers, I., Robenek, M. J., Troyer, D & Severs, N. J. (2006). Adipophilin-enriched domains in the ER membrane are sites of lipid droplet biogenesis. Journal of Cell Science. 119: 4215-4224.

Robenek, H., I. Buers, O., Hofnagel, M.J,. Robenek, D. Troyer & Severs, N.J. (2009). Compartmentalization of proteins in lipid droplet biogenesis. Biochim. Biophys. Acta. 1791:408-418.

Rouquette, M., Page, S., Bryant, R., Benboubetra, M., Stevens, C.R., Blake, D.R., Whish, W.D., Harrison R. and Tosh, D. (1998). Xanthine oxidoreductase is asymmetrically localized on the outer surface of human endothelial cells in culture. *FEBS Lett.* 426: 397-401.

RuettimannK. W & Ladisch, M.R. (1987). Casein micelles: structure, properties and enzymic coagulation. Enzyme and Microbial Technology. 9: 578-589.

S

Saadaoui, B., Leonardo Bianchi, L., Henry, C., Miranda, G., Martin, P. & Cebo, C. Combining proteomic tools to characterize the protein fraction of llama (*Lama glama*) milk. Electrophoresis. Sous press.

Sahani, M.S., Rahinasa Bapathy, M., Gorakhmal, D & Khanna, N.D. (1998). Effect of milking techniques on milk production potential in Indian camel breeds under farm conditions. Dans Proceedings of the third annual meeting on animal production under arid conditions, Université des Emirats arabes unis. 1: 52-58.

Saint-Martin, G., Maillard, A., Roy, F & Musa, B.E. (1990). Performances de reproduction des camelins en milieu naturel : exemple d'une enquête dans le Butana, au Sudan. Allocution d'ouverture. Atelier peut-on améliorer les performances de reproduction des camelins ? Paris 10-12 Septembre 1990.

Samman, M.A., Al-Saleh, A.A. & Sheth, K. (1993). The Karyotype of the Arabian Camel, *Camelus dromedarius*. J. King Saud Univ., Science. 5: 57-64.

Sawaya, W. N., Khalil, J.K., Al-Shalhat, L, A & Al-Mohammed, H. (1984). Chemical composition and nutritional quality of camel milk. J. Food Sci. 49: 744-747.

Schardinger, F. (1902). Über das Verhalten der khhmilch gegen Methylenblau und seine Verwendung zur Unterscheidung von ungekochter und gekochter Milch. Untersuch Nahrungs Genussmittel. 5: 113-1121.

Shabo, Y., Barzel, R., Margoulis, M & Yagil, R. (2005). Camel milk for food allergies in children. Immunology and Allergy. 7: 796-798.

Sharmanov, T.S., Kedyrova, R.K., Shlygina, O.E & Zhaksylykova, R.D. (1978). Changes in the indicators of radioactive isotope studies of the liver of patients with chronic hepatitis during treatment with whole camels and mares milk. Vaprosy Pitaniya. 1: 9-13.

Sharp, J.A., Lefèvre, C. & Nicholas, K.R. (2008). Lack of functional alpha-lactalbumin prevents involution in Cpae fur seals and identifies the protein as an apoptic milk factor in mammary gland involution. BMC biology 6: 48.

Shimizu, M., Yamauchi, K & Kanno, C. (1980). Effect of proteolic of milk fat globule membrane proteins on stability of the globules. Milchwissenschaft. 35: 9-12.

Shimizu,M, Yamauchi, K & Saito, M .(1989). Emulsifiying properties of the proteose peptone fraction obtained from bovine milk. Michwissenchaft. 44: 497-500.

Shuiep, Giambra, I.J., El Yas Mohamed,I., El Zubeir C & Erhardt, G. (2013). Biochemical and molecular characterization of polymorphisms of αs1-casein in Sudanese camel (*Camelus dromedarius)* milk International Dairy Journal. 28: 88-93.

Siboukeur, O. (2008). Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques, Option : Sciences Alimentaires. 135p.

Simpkin, S.P., Rowlinson, P., Tullu, D & Lesorogol, P. (1997). A comparaison of two traditional camel calf management systems in Kenya and implications for milk production, J. Camel Pract. Res. 4: 229-234.

Simpkin, S.P., Rowlinson, P., Tullu, D & Lesorogol, P. (1997). A comparison of two traditional camel calf management systems in Kenya and implications for milk production, J. Camel Pract. Res. 4: 229-234.

Simpson, K.J., Bird, P., Shaw, D. & Nicholas, K. (1998). Molecular characterisation and hormonedependent expression of the porcine whey acidic protein gene. J Mol Endocrinol. 20: 27-35.

Singh, H. (2006). The milk fat globule membrane-A biophysical system for food applications. Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 11: 154-163.

Smith, L.M., Bianco, D.H & Dunkley, W.L. (1977). Composition of milk fat globules with increased linoleic acid. J. Am. Oil Chem. Soc. 54: 132-137.

Sood, M. & Sidhu, K.S. (1979). Heat stability, the voluminosity and hydratation of casein micelles from milks of different species. *New Zeland J. Dairy Sci. Technol.*14: 217-225.

Sorensen, E.S & Petersen, T.E. (1993). Phosphorylation, glycosylation and amino acids sequence of component PP3 from fraction of bovin milk. *J.Dairy Res*. 60: 535-542.

Spik, G., Coddeville, B., Mazurier, J., Boune, Y., Cambillaut, C. & Montreuil, J. (1994). Primary and three-dimensional structure of lactotransferrin (lactoferrin) glycans. Adv. Exp. Med. Biol. 357: 21-32.

Spitsberg, V.L., Matitashvili, E. & Gorewit, R.C. (1995). Association and coexpression of fatty acid binding protein and glycoprotein CD36 in the bovine mammary gland. European Journal of Biochemistry. 230: 872-878.

Stanley, H.F., Kadwell, M & Wheeler, J.C. (1994) Molecular Evolution of the Family Camelidae – A Mitochondrial DNA Study. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 256: 1-6.

Svanborg, C. (1995). Apoptosis induced by a human milk protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92: 8064-8068.

T

Tchorbanov, B & Live, I. (1993). Limited enzymatic hydrolysis od casein in the presence of ethanol. Enz. Microb. Technol. 15: 974-978.

Te Whaiti, I.E & Fryer, T.F. (1975). Factors that determine the gelling of cream, NZ. J. Dairy Sci. Technol. 10: 2.

Thompson, M.P. Tarassuk, N.P., jenness R., Lillevik, Ashworth V.S & Rose, D.(1965). Nomemnclature of the proteins of cow's milk. Second revision. Journal of Dairy Science. 48: 159-169.

Triplette, A.A., Sakamoto, K Matulka, L.A., Shen, L., Smith, G.H. & Wagner, K U. (2005). expression of the whey acidic protein (Wap) is necessary for adequate nourishment of the offspring but not functional differebtiation of mammary epithelial cells. Genesis. 43 : 1-11.

Troyer, H. D & Severs, N. J. (2006). Butyrophilin controls milk fat globule secretion. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 103: 10385-10390.

U

Urashima, T & Taufik, E. (2010). Oligosaccharides in milk. Their benefits and future utilization. Review. Media Peternakan. 189-197.

Urashima, T., M. Kitaoka, S. Asakuma &M. Messer. (2009). Milk oligosaccharides. Advanced Dairy Chemistry. 3:295-349.

Usuda, N., Reddy, M.K., Hashimoto, T., Rao M.S & Reddy, J.K. (1988). Tissue specificity and species differences in the distribution of urate oxidase in peroxisomes. Laboratory Invest. 58: 100-111.

V

Vaerman, J. P. (1973). Comparative immunochemistry of IgA. In: Research in Immunochemistry and Immunobiology. 3: 91-161.

Vanderghem, C., Bodson, P., Danthine, S., Paquot, M & Blecker, C. (2010). Milk fat globule membrane and buttermilks:from composition to valorization. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 14 : 485-500.

Vilotte, S.L & Soulier, S. (1992). Isolation and Characterization of the mousse alpha-lac encoding gene: interspecies comparaison, tissue and stage-specific expression. Gene. 119: 287- 292.

Visker, M.H.P.W., Heck, J.M.L., Van Valenberg., H.J.F & Bovenhuis, H. (2012). Short communication : A new bovine milk-protein variant : α-lactalbumin variant D. 95: 2165-2169.

W

Walstra, P., Jenness, R. (1984). Dairy Chemistry and Physics., Wiley, New York. 279–289.

Wangoh, J., Farah Z., & Puhan, Z. (1998). Isoelectric focusing of camel milk proteins. International Dairy Journal. 8: 617-621.

Wernery, U. (2006). Camel milk, the white gold of the desert. Journal of Camel Practice and Research. 13: 15-26.

Wilson, R.T. (1998). The Tropical Agriculturalist: Camels. Macmilan Education Ltd. London and Basingstoke.

X

Xavier, P., Gilles, V., Faye, B. & Faugère, O. (2000). Elevage Cameli au Niger. Projet de renforcement institutionnel et technique de la filière 1 ère édition. pp.93.

Y

Yagil, R. & Etzion, Z. (1980). Effect of drought condition on the quality of camel milk. J. Dairy Res. 47: 159-166.

Yang, Y., Spitzer, E., Kenney, N. Zschiesche, W., Li M., Kromminga, A., Muller, T., Spener, F., Lezius, A. Veerkamp, J.H., Smith, G.H., Salomon, D.S & Grosse, R. (1994).
Members of the fatty acid binding protein family are differentiation factors mammary gland. Journal of cellular Biology. 127: 1097-1109.

Ye, A., Singh, H., Taylor, M.W & Anema, S. (2002). Characterization of protein components of natural and heat-treated milk fat globule membranes. Int. Dairy J. 12: 393-402.

Youcef, N., Saidi, D., Mezemaze, F., El-Mecherfi, K.E., Kaddouri, H., Negaoui, H., Chekroum, A & Kheroua, O. (2009). Cross Reactivity between Dromedary Whey Proteins and IgG Anti Bovine α-Lactalbumin and Anti Bovine β-Lactoglobulin. 6:1448-1452.

Yuan, G.E.A. (2002). Ecology and Conservation of Wild Bactrian Camels (*Camelus bactrianus ferus).* (Mongolian Conservation Coalition & Admon Printing, 2002).

Z

Zagorski,O., Maman, A., Yafee, A., Meisles, A., Van Creveld, C & Yagil, R. (1998). Insulin in milk- A comparative study. International journal of animal science. 13: 241-244.

Zhang, H., Yao, J., Zhao, D., Liu, H., Li, J & Guo, M. (2005). Changes in chemical composition of Alxa Bactrian camel milk during lactation. J. Dairy Sci. 88: 3402-3410.

Zhao, X.X. (1998). Milk production of Chinese Bactrian camel (*Camelus bactrianus*). In: Bonnet, P. (Ed.), Actes du colloque, Dromadaires et chameaux, animaux laitiers/Dromedaries and camels, milking animals. CIRAD Publ., Nouakchott, Mauritania. 101-105.

Annexes

ANNEXE 1

Gel de séparation (Resolving gel)

Acrylamide	6%	10%	12,5%	15%
Acrylamide 30% (ml)	2	3	4,15	5
Tampon Tris-HCl 1,5 M pH 8,8 (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5
Eau MilliQ (ml)	5,5	4,2	3,35	2,5
TEMED 100% (µl)	10	10	10	10
Persulfate d'ammonium 10% (µl)	100	100	100	100

Gel de concentration 4% (Stacking gel)

Acrylamide 30% (ml)	1,5
Tampon Tris-HCl 0,5 M pH 6,8 (ml)	2,5
Eau MilliQ (ml)	6
TEMED 100% (µl)	10
Persulfate d'ammonium 10% (µl)	100

ANNEXE 2

Solutions mères

Solution d'acrylamide/Bis
30%

Tampon de séparation (Resolving) : Tris-HCl 1,5 M pH 8,8 (Pour 500 ml dans l'eau)

Tris 1, 5 M	90,8 g
SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) 0, 4 %	10 ml de SDS 20%

Ajuster à pH 8,8 avec le HCl

Tampon de concentration (stacking) : Tris-HCl 0,5 M pH 6,8 (Pour 500 ml dans l'eau)

Tris 0,5 M	12,1g
SDS 0,4	0,8 g

Ajuster à pH 6,8 avec le HCl

Solution pour 1 litre de tampon de migration SDS PAGE 10X

Tris 0,5 M	72,7g
Glycine 2M	151.4g
SDS 1%	10g (poudre) ou 50 ml SDS 20%
H_2O	qsp 1 L

ANNEXE 3

Programme de réhydratation et focalisation électrique

Réhydratation des strips (active)	50 V, 12 h
1. Montée linéaire	300 V, 1h 30 min
2. Montée linéaire	300 V---> 3000 V, 2h
3. Plateau	3000 V, 2h 30
4. Montée linéaire	3000 V---> 10000 V, 2h
5. Plateau	10000 V, 5h

Soit un total théorique de 75 000 V.h pour une durée de 25 heures.

ANNEXE 4

Gels 12% 25 cm X 20 cm X 1 mm
(Multicuve Amersham/GE Healthcare)

Acrylamide 40% (ml)	112,50
Tampon Tris-HCl 1,5 M (ml)	75
SDS 20%	1,5
Eau MilliQ qsp (ml)	108
TEMED 100% (ml)	0,083
Persulfate d'ammonium 10% (ml)	3

ANNEXE 5

Mélange pour la PCR

Tampon PCR 4X	4µl
dNTP (10 mM)	0,2µl
MgCl2 (25 mM)	1,2µl
Amorces (*Forward primer 10µM)	1µl
(*Reverse primer 10µM)	1µl
Taq (ADN polymérase thermorésistante)	0,5 µl
H_2O stérile	11,6 µl
ADNc à amplifier (Template issu de la RT-PCR non dilué)	1µl

* Les amorces (Séquence 5'>3') utilisées sont les suivantes :

Foward : TTC TGT GAC TCC AGC CAG TG

Reverse : TAT CGA AGT TGC CAG GGA AG

ANNEXE 6

81 groupes de protéines du lait de lama identifiées par LC/MS-MS

Groupe de protéines	Protéines identifiées/Espèce	Log (E-value)	Masse moléculaire (Da)
1	Lactadherin precursor-like protein [Camelus ferus]	-202,7108459	56,2
1	milk fat globule EGF factor 8 [Camelus dromedarius]	-138,1326141	32,7
2	CASA1_CAMDR RecName: Full=Alpha-S1-casein	-134,3231659	26,8
2	casein [Camelus dromedarius]	-134,3231659	25,7
2	alpha-s1-casein precursor, partial [Camelus dromedarius]	-68,52140808	5,8
3	immunoglobulin G1b constant region [Lama glama]	-106,7778854	35,7
3	immunoglobulin heavy chain constant region of tetrameric IgG1b membrane form [Vicugna pacos]	-106,7778854	43,5
3	immunoglobulin heavy chain constant region of tetrameric IgG1b secreted form [Vicugna pacos]	-106,7778854	35,7
3	immunoglobulin heavy chain constant region of homodimeric IgG2c membrane form [Vicugna pacos]	-141,0005493	33,9
3	immunoglobulin heavy chain constant region of homodimeric IgG2c secreted form [Vicugna pacos]	-141,0005493	26,0
3	immunoglobulin heavy chain constant region of tetrameric IgG1a membrane form [Vicugna pacos]	-133,8977203	44,5
3	immunoglobulin heavy chain constant region of tetrameric IgG1a secreted form [Vicugna pacos]	-133,8977203	36,7
3	ig gamma-3 chain C region [Camelus ferus]	-66,66086578	37,4

3	gi|62183734|gb|AAX73259.1| immunoglobulin G2b constant region, partial [Lama glama]	-117,1562653	27,2
3	immunoglobulin G3 heavy chain constant region, partial [Lama glama]	-115,1793518	23,9
3	immunoglobulin gamma 1a heavy chain, partial [Camelus dromedarius]	-47,54048157	24,5
3	immunoglobulin gamma 1a heavy chain, partial [Camelus bactrianus]	-47,54048157	24,5
3	immunoglobulin gamma 1b heavy chain, partial [Camelus dromedarius]	-13,00297737	26,0
3	surface immunoglobulin M heavy chain variable region [Vicugna pacos]	-29,92052269	29,2
3	immunoglobulin heavy chain mu [Camelus dromedarius]	-28,32754517	59,5
3	anti-p53 immunoglobulin heavy chain variable region [Lama glama]	-15,92321396	13,4
3	immunoglobulin gamma 1a heavy chain, partial [Camelus bactrianus]	-14,59153461	26,8
3	immunoglobulin gamma 1b heavy chain, partial [Camelus dromedarius]	-16,81872749	26,1
3	immunoglobulin gamma 1b heavy chain, partial [Camelus dromedarius]	-8,733298302	26,2
3	immunoglobulin gamma 1a heavy chain, partial [Camelus dromedarius]	-10,97633553	27,1
3	immunoglobulin heavy chain variable region [Vicugna pacos]	-24,94418716	10,1
3	immunoglobulin heavy chain VHDJ region [Camelus dromedarius]	-23,43434143	13,3
3	immunoglobulin heavy chain [Vicugna pacos]	-23,61225319	20,9
3	| immunoglobulin heavy chain variable region [Vicugna pacos]	-11,47242165	10,3
3	immunoglobulin heavy chain VHDJ region [Camelus dromedarius]	-19,44231033	13,1
3	immunoglobulin heavy chain variable region [Vicugna pacos]	-13,40230465	10,3
3	immunoglobulin heavy chain variable domain [Lama glama]	-16,54631424	13,0

3	immunoglobulin heavy chain [Vicugna pacos]	-6,990124226	19,1
3	immunoglobulin heavy chain [Vicugna pacos]	-14,31875896	18,3
3	immunoglobulin heavy chain VHDJ region [Camelus dromedarius]	-10,82252121	13,0
3	immunoglobulin heavy chain VHDJ region [Camelus dromedarius]	-6,281731129	12,6
3	immunoglobulin heavy chain VHDJ region [Camelus dromedarius]	-6,281731129	12,8
3	immunoglobulin heavy chain VHDJ region [Camelus dromedarius]	-13,85201454	14,3
3	immunoglobulin heavy chain variable domain [Lama glama]	-13,9730587	13,6
3	| r8 [Lama glama]	-5,332061291	13,8
3	immunoglobulin heavy chain variable region JDQ-B5 [Vicugna pacos]	-4,703334808	13,7
3	immunoglobulin heavy chain VHDJ region [Camelus bactrianus]	-5,337242126	12,3
4	lactoferrin [Camelus dromedarius]	-247,9941559	77,1
4	Chain A, Structure Of Camel Apo-Lactoferrin Demonstrates Its Dual Role In Sequestering And Transporting Ferric Ions Simultaneously:crystal Structure Of Camel Apo-Lactoferrin At 2.6a Resolution.	-221,741684	75,2
4	A Chain A, Formation Of A Protein Intermediate And Its Trapping By The Simultaneous Crystallization Process: Crystal Structure Of An Iron-Saturated Intermediate In The Fe3+ Binding Pathway Of Camel Lactoferrin At 2.7 Resolution	-221,741684	75,2
4	hypothetical protein CB1_000443013 [Camelus ferus]	-15,1347065	174,8
5	butyrophilin subfamily 1 member A1 precursor [Camelus ferus]	-200,7136993	51,1
6	CASB_CAMDR RecName: Full=Beta-casein; Flags: Precursor	-55,63788605	26,1
6	beta-casein precursor [Camelus dromedarius]	-55,63788605	26,1

6	casein [Camelus dromedarius]	-55,63788605	26,1
6	b-casein, partial [Camelus dromedarius]	-22,33510017	15,8
7	xanthine dehydrogenase/oxidase [Camelus ferus]	-193,5738983	150,0
8	casein [Camelus dromedarius]	-113,2977829	22,9
8	CASA2_CAMDR RecName: Full=Alpha-S2-casein; Flags: Precursor	-113,2977829	22,9
9	polymeric immunoglobulin receptor precursor [Camelus ferus]	-173,6036224	109,3
10	kappa casein [Camelus dromedarius]	-55,03231049	20,3
10	kappa casein [Camelus bactrianus]	-55,03231049	20,3
10	k-casein, partial [Lama guanicoe]	-41,43332672	13,7
10	CASK_LAMGU RecName: Full=Kappa-casein	-41,43332672	13,7
11	actin, cytoplasmic 1 [Camelus ferus]	-105,9366455	41,6
11	ACTB_CAMDR RecName: Full=Actin, cytoplasmic 1; AltName: Full=Beta-actin; Contains: RecName: Full=Actin, cytoplasmic 1, N-terminally processed	-105,9366455	41,7
11	hypothetical protein CB1_000252031 [Camelus ferus]	-45,49353409	157,8
12	perilipin-2 isoform 1 [Camelus ferus]	-111,5708313	47,2
13	desmoplakin [Camelus ferus]	-83,21695709	322,2
14	L-amino-acid oxidase [Camelus ferus]	-110,793663	55,3
15	ATP synthase subunit beta, mitochondrial isoform 1 [Camelus ferus]	-29,68298531	65,3
16	hypothetical protein CB1_000220004 [Camelus ferus]	-10,51769829	142,5
16	elongation factor 1-alpha 1 [Camelus ferus]	-23,26787186	54,4

17	hypothetical protein CB1_000595044 [Camelus ferus]	-39,14152908	25,5
17	hypothetical protein CB1_002639014 [Camelus ferus]	-12,78984165	26,7
18	lactophorin [Camelus dromedarius]	-51,98738098	15,4
19	polyubiquitin [Camelus dromedarius]	-17,24312019	12,2
19	UBIQ_CAMDR RecName: Full=Ubiquitin	-17,24312019	8,5
19	polyubiquitin-B precursor [Camelus ferus]	-17,24312019	25,7
19	ubiquitin A-52 residue ribosomal protein fusion product 1-like protein [Camelus ferus]	-17,24312019	23,4
20	heat shock cognate protein [Camelus ferus]	-38,72861099	71,1
20	heat shock protein 70 1A [Camelus dromedarius]	-15,9232769	70,0
20	heat shock protein 70 1B [Camelus dromedarius]	-15,9232769	70,0
20	heat shock protein 70 A1B [Camelus dromedarius]	-15,9232769	70,0
20	glucose-regulated protein precursor [Camelus ferus]	-14,82764149	72,1
21	moesin [Camelus ferus]	-63,15795135	67,4
21	Ezrin isoform 5-like protein, partial [Camelus ferus]	-18,46466064	71,0
22	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial precursor [Camelus ferus]	-17,47890282	63,0
23	lactalbumin [Lama guanicoe]	-12,74472713	10,4
23	|LALBA_CAMDR RecName: Full=Alpha-lactalbumin; AltName: Full=Lactose synthase B protein	-12,8673563	14,3
23	|alpha-lactalbumin precursor [Camelus ferus]	-12,8673563	16,4
24	Ig lambda chain C regions isoform 19-like protein [Camelus ferus]	-19,31875801	14,8

24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-19,31875801	24,2
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-19,31875801	24,9
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-19,31875801	24,9
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-19,31875801	24,8
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-19,31875801	24,8
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-19,31875801	24,8
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-19,31875801	24,6
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-19,31875801	24,8
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-16,31875992	24,7
24	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-16,31875992	24,6
24	immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 isoform 1, partial [Camelus ferus]	-14,23957729	11,2
25	putative E3 ubiquitin-protein ligase Roquin [Camelus ferus]	-39,75410843	158,5
26	annexin A2 [Camelus ferus]	-36,05343628	46,5
27	hypothetical protein CB1_000200068 [Camelus ferus]	-36,78039932	89,8
28	fatty acid synthase [Camelus ferus]	-21,80158997	289,1
29	lipoprotein lipase isoform 3, partial [Camelus ferus]	-36,19990921	46,5
30	tubulin alpha-1D chain [Camelus ferus]	-35,81183624	52,6
30	tubulin alpha-4A chain [Camelus ferus]	-29,97375488	51,6
30	Tubulin alpha-6 chain isoform 1-like protein [Camelus ferus]	-9,488384247	35,2

31	peptidoglycan recognition protein [Camelus dromedarius]	-30,19096947	21,3
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein With Disaccharide At 3.2a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein With Disaccharide At 3.2a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein With Disaccharide At 3.2a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein With Disaccharide At 3.2a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 2.8a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 2.8a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 2.8a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 2.8a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein At 1.8a Resolution	-30,19096947	18,9

31	Chain B, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein At 1.8a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein At 1.8a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein At 1.8a Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Methyloxane-2,3,4,5-Tetrol At 2.9 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Methyloxane-2,3,4,5-Tetrol At 2.9 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Methyloxane-2,3,4,5-Tetrol At 2.9 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Methyloxane-2,3,4,5-Tetrol At 2.9 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With N-Acetylgalactosamine At 3.1 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With N-Acetylgalactosamine At 3.1 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With N-Acetylgalactosamine At 3.1 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With N-Acetylgalactosamine At 3.1 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	peptidoglycan recognition protein [Camelus dromedarius]	-30,19096947	21,3
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Alpha-D-Glucopyranosyl Alpha-D- Glucopyranoside At 3.4 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Alpha-D-Glucopyranosyl Alpha-D- Glucopyranoside At 3.4 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Alpha-D-Glucopyranosyl Alpha-D- Glucopyranoside At 3.4 A Resolution	-30,19096947	18,9

31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Alpha-D-Glucopyranosyl Alpha-D- Glucopyranoside At 3.4 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Ternary Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Maltose And N-Acetylglucosamine At 1.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Ternary Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Maltose And N-Acetylglucosamine At 1.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Ternary Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Maltose And N-Acetylglucosamine At 1.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Ternary Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Maltose And N-Acetylglucosamine At 1.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (pgrp-s) With N-acetyl Glucosamine(nag) At 2.6 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (pgrp-s) With N-acetyl Glucosamine(nag) At 2.6 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (pgrp-s) With N-acetyl Glucosamine(nag) At 2.6 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (pgrp-s) With N-acetyl Glucosamine(nag) At 2.6 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Alpha-Rhamnose At 2.9 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Alpha-Rhamnose At 2.9 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Alpha-Rhamnose At 2.9 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Alpha-Rhamnose At 2.9 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With The Pgn Fragment At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9

31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With The Pgn Fragment At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With The Pgn Fragment At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With The Pgn Fragment At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) And Lipoteichoic Acid At 2.1 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) And Lipoteichoic Acid At 2.1 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) And Lipoteichoic Acid At 2.1 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) And Lipoteichoic Acid At 2.1 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Heparin-Dissacharide At 2.8 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	B Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Heparin-Dissacharide At 2.8 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Heparin-Dissacharide At 2.8 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Heparin-Dissacharide At 2.8 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With N-Acetyl Muramic Acid At 2.6 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With N-Acetyl Muramic Acid At 2.6 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With N-Acetyl Muramic Acid At 2.6 A Resolution	-30,19096947	18,9

31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With N-Acetyl Muramic Acid At 2.6 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-S With A Trapped Diethylene Glycol In The Ligand Diffusion Channel At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-S With A Trapped Diethylene Glycol In The Ligand Diffusion Channel At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-S With A Trapped Diethylene Glycol In The Ligand Diffusion Channel At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-S With A Trapped Diethylene Glycol In The Ligand Diffusion Channel At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With A Bound N-Acetylglucosamine In The Diffusion Channel At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With A Bound N-Acetylglucosamine In The Diffusion Channel At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With A Bound N-Acetylglucosamine In The Diffusion Channel At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With A Bound N-Acetylglucosamine In The Diffusion Channel At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Dipeptide L-Ala D-Glu At 2.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Dipeptide L-Ala D-Glu At 2.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Dipeptide L-Ala D-Glu At 2.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Dipeptide L-Ala D-Glu At 2.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Structural Basis Of Recognition Of Pathogen-Associated Molecular Patterns And Inhibition Of Proinflammatory Cytokines By Camel Peptidoglycan Recognition Protein	-30,19096947	18,9

31	Chain B, Structural Basis Of Recognition Of Pathogen-Associated Molecular Patterns And Inhibition Of Proinflammatory Cytokines By Camel Peptidoglycan Recognition Protein	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Structural Basis Of Recognition Of Pathogen-Associated Molecular Patterns And Inhibition Of Proinflammatory Cytokines By Camel Peptidoglycan Recognition Protein	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Structural Basis Of Recognition Of Pathogen-Associated Molecular Patterns And Inhibition Of Proinflammatory Cytokines By Camel Peptidoglycan Recognition Protein	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein- Short (cpgrp-s) With Mycolic Acid At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein- Short (cpgrp-s) With Mycolic Acid At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein- Short (cpgrp-s) With Mycolic Acid At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein- Short (cpgrp-s) With Mycolic Acid At 2.5 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein(Cpgrp-S) With A Mycobacterium Metabolite Shikimate At 2.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein(Cpgrp-S) With A Mycobacterium Metabolite Shikimate At 2.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein(Cpgrp-S) With A Mycobacterium Metabolite Shikimate At 2.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein(Cpgrp-S) With A Mycobacterium Metabolite Shikimate At 2.7 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Cellular Metabolite Chorismate At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Cellular Metabolite Chorismate At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Cellular Metabolite Chorismate At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9

31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Cellular Metabolite Chorismate At 3.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of Pgrp-S Complexed With Chorismate At 2.15 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of Pgrp-S Complexed With Chorismate At 2.15 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of Pgrp-S Complexed With Chorismate At 2.15 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of Pgrp-S Complexed With Chorismate At 2.15 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of Pgrp-s Complexed With Myristic Acid At 2.28 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of Pgrp-s Complexed With Myristic Acid At 2.28 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of Pgrp-s Complexed With Myristic Acid At 2.28 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of Pgrp-s Complexed With Myristic Acid At 2.28 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-	-30,19096947	18,9

	Acetylmuramic Acid		
31	Chain B, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-30,19096947	18,9
31	PGRP1_CAMDR RecName: Full=Peptidoglycan recognition protein 1;	-30,19096947	21,3
31	Chain A, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein-s Complexed With Butyric Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein-s Complexed With Butyric Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein-s Complexed With Butyric Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein-s Complexed With Butyric Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Pgrp-s With Lauric Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Pgrp-s With Lauric Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Pgrp-s With Lauric Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Pgrp-s With Lauric Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9

31	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Cpgrp-s With Stearic Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Cpgrp-s With Stearic Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Cpgrp-s With Stearic Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Cpgrp-s With Stearic Acid At 2.2 A Resolution	-30,19096947	18,9
31	Chain A, Structural Insights Into The Dual Strategy Of Recognition Of Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-s: Ternary Complex Of Pgrp-s With Lps And Fatty Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain B, Structural Insights Into The Dual Strategy Of Recognition Of Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-s: Ternary Complex Of Pgrp-s With Lps And Fatty Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain C, Structural Insights Into The Dual Strategy Of Recognition Of Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-s: Ternary Complex Of Pgrp-s With Lps And Fatty Acid	-30,19096947	18,9
31	Chain D, Structural Insights Into The Dual Strategy Of Recognition Of Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-s: Ternary Complex Of Pgrp-s With Lps And Fatty Acid	-30,19096947	18,9
32	cell death activator CIDE-A-like protein [Camelus ferus]	-13,77493954	41,2
33	hemopexin precursor [Camelus ferus]	-34,33319855	46,5
34	immunoglobulin heavy chain constant region of IgA membrane form [Vicugna pacos]	-38,26354599	42,5
34	immunoglobulin heavy chain constant region of IgA secreted form [Vicugna pacos]	-38,26354599	36,9
35	hypothetical protein CB1_000256008 [Camelus ferus]	-33,84043121	22,0
36	gitranscobalamin-2 precursor [Camelus ferus]	-27,31213951	54,6
36	transcobalamin-2 precursor [Camelus ferus]	-27,31213951	54,6
37	sodium-dependent phosphate transport protein 2B-like protein [Camelus ferus]	-22,83129501	75,4

38	neutrophil gelatinase-associated lipocalin-like protein [Camelus ferus]	-23,89127541	28,3
39	complement C3-like protein [Camelus ferus]	-22,48513985	262,7
40	ADP-ribosylation factor 1-like isoform 1 [Camelus ferus]	-9,057496071	21,7
40	ADP-ribosylation factor 2 [Camelus ferus]	-9,057496071	25,1
40	hypothetical protein CB1_000762015 [Camelus ferus]	-7,022733688	55,0
41	tartrate-resistant acid phosphatase type 5 [Camelus ferus]	-19,98812103	62,0
42	serpin A3-8 precursor [Camelus ferus]	-14,23826694	74,9
43	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Camelus dromedarius]	-21,39069939	17,1
43	hypothetical protein CB1_000216010 [Camelus ferus]	-21,39069939	16,4
44	tubulin beta-2C chain [Camelus ferus]	-27,78884888	41,6
45	hypothetical protein CB1_000312006 [Camelus ferus]	-10,44806194	82,6
46	arginase-1 [Camelus ferus]	-4,557206631	30,7
47	ras-related protein Rab-1A isoform 1 [Camelus ferus]	-11,17005348	18,8
47	hypothetical protein CB1_000429033 [Camelus ferus]	-6,630784035	53,0
48	leucine-rich repeat-containing protein 15 [Camelus ferus]	-21,30111504	64,6
49	5-nucleotidase isoform 2 [Camelus ferus]	-21,6348114	58,0
50	guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2 isoform 1, partial [Camelus ferus]	-8,855736732	34,9
50	guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2 isoform 1 [Camelus ferus]	-8,855736732	37,2

51	plasminogen [Camelus ferus]	-12,85263348	73,0
52	aldehyde oxidase 3-like protein [Camelus ferus]	-4,442492962	196,6
53	hypothetical protein CB1_000691004 [Camelus ferus]	-7,773915768	74,1
54	cell division control protein 42 isoform 1-like protein [Camelus ferus]	-5,398722649	24,1
55	gelsolin isoform 32 [Camelus ferus]	-8,516840935	77,6
56	tyrosine-protein kinase Lyn isoform 1 [Camelus ferus]	-9,552066803	48,9
57	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A-like protein [Camelus ferus]	-11,18045616	17,7
57	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A [Camelus ferus]	-11,18045616	21,5
58	vitamin D-binding protein-like protein [Camelus ferus]	-16,96297264	49,3
59	Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF1 [Camelus ferus]	-10,18842506	24,7
60	isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic [Camelus ferus]	-9,689444542	75,9
61	keratin-associated protein 3-3 [Camelus ferus]	-12,23957729	10,6
61	keratin-associated protein 3-3 [Camelus ferus]	-12,23957729	10,5
62	neutral alpha-glucosidase AB isoform 1 [Camelus ferus]	-6,410274029	103,9
63	Ig kappa chain V-II region RPMI 6410 precursor-like protein [Camelus ferus]	-7,759700775	39,9
64	14-3-3 protein sigma-like protein [Camelus ferus]	-15,27090073	27,6
65	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 3 [Camelus ferus]	-4,557206631	99,8
66	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4- galactosyltransferase 1, membrane-bound form-like protein [Camelus ferus]	-3,991399765	37,3
67	platelet glycoprotein 4 [Camelus ferus]	-9,800197601	38,3

68	actinin, alpha 1 isoform 6-like protein [Camelus ferus]	-8,045757294	101,5
69	fibrinogen beta chain precursor [Camelus ferus]	-6,097453117	55,3
70	retinol-binding protein 4 precursor [Camelus ferus]	-5,701364994	25,9
71	hypothetical protein CB1_002300016 [Camelus ferus]	-8,540607452	123,8
72	prothrombin preproprotein [Camelus ferus]	-2,899629593	71,9
73	hypothetical protein CB1_001118013 [Camelus ferus]	-9,657577515	84,6
74	zinc-alpha-2-glycoprotein-like protein [Camelus ferus]	-8,670805931	21,8
75	immunoglobulin heavy chain variable domain [Lama glama]	-6,088310242	12,5
75	immunoglobulin heavy chain variable domain [Lama glama]	-6,088310242	12,7
76	beta-1,3-galactosyltransferase 4-like protein [Camelus ferus]	-6,204120159	59,5
77	Pigment epithelium-derived factor precursor-like protein [Camelus ferus]	-5,838931561	46,0
78	heat shock cognate protein HSP 90-beta-like isoform 3 [Camelus ferus]	-8,286509514	75,7
78	heat shock protein HSP 90-alpha [Camelus ferus]	-8,286509514	76,6
79	hyaluronan and proteoglycan link protein 3 precursor [Camelus ferus]	-3,868702173	40,5
80	quiescin Q6 isoform a-like protein [Camelus ferus]	-7,841637611	72,2
81	ras-related protein Rab-11A [Camelus ferus]	-6,253365993	24,3
81	ras-related protein Rab-11B [Camelus ferus]	-6,253365993	24,5

ANNEXE 7

322 protéines de la membrane de globules gras de dromadaire identifiées par LC/MS-MS

Groupe de protéines	Description	Log (E-value)	Masse moléculaire (Da)	Nombres de peptides uniques
1	CAPHI Xanthine oxidoreductase OS=Capra hircus	-208,8561	146,7	53
1	PIG Uncharacterized protein (Fragment) OS=Sus scrofa	-160,0714	146,8	41
1	AILME Uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-126,3766	148,6	30
1	Camel1_plate-044_N01.ab1|Frame1	-89,0352	22,8	17
1	HORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-83,9447	145,1	24
1	CL3868Contig1|Frame3	-74,3993	38,9	18
2	CL1353Contig1|Frame1	-138,9993	35,8	32
2	SCL598Contig1|Frame1|Orf	-41,9373	27,6	12
2	RABIT Uncharacterized protein OS=Oryctolagus cuniculus	-18,8285	47,7	6
3	CL5044Contig1|Frame2|Orf	-166,1921	48,2	41
4	CAPHI Butyrophilin subfamily 1 member A1 OS=Capra hircus	-84,8794	59,1	27
4	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-67,0690	58,9	21
4	AILME Uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-26,9897	63,2	10
5	CL726Contig1|Frame3	-79,4318	55,2	19
6	CL2888Contig1|Frame2|Orf	-59,1322	33,0	12

7	CAMDR Alpha-S1-casein OS=Camelus dromedarius GN=CSN1S1	-70,4512	26,8	20
8	HUMAN Elongation factor 1-alpha OS=Homo sapiens GN=EEF1A1	-47,1269	50,0	11
9	RAT Clathrin heavy chain 1 OS=Rattus norvegicus	-152,1400	191,3	40
10	MOUSE Actin, cytoplasmic 2 OS=Mus musculus	-49,1810	41,7	14
10	RAT Similar to cytoplasmic beta-actin (Predicted) OS=Rattus norvegicus	-22,4583	41,8	6
11	MYOLU Uncharacterized protein OS=Myotis lucifugus	-93,0571	265,0	32
11	SHEEP Acetyl-CoA carboxylase (Fragment) OS=Ovis aries	-19,5763	27,2	7
12	CL4725Contig1|Frame1|Orf	-38,2252	53,0	10
13	CL1656Contig1|Frame3|Orf	-61,1504	45,9	15
13	RABIT Uncharacterized protein OS=Oryctolagus cuniculus	-38,1814	60,9	10
13	AILME Putative uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-29,9459	60,5	8
14	HORSE Heat shock cognate 71 kDa protein OS=Equus caballus	-47,4231	70,8	14
14	HORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-29,4066	70,1	12
14	HORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-43,0189	71,7	12
15	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-23,2057	22,3	8
15	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-21,7821	22,1	7
15	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-13,3514	23,4	6
15	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-10,8783	23,6	4
15	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-22,3817	25,8	4

15	BOVIN RAB14 protein OS=Bos taurus	-14,4370	23,8	5
16	Camel2_plate-005_B22.ab1|Frame2	-26,7111	30,7	7
16	CALJA Uncharacterized protein OS=Callithrix jacchus	-15,0560	75,8	4
16	CALJA Uncharacterized protein OS=Callithrix jacchus	-15,0560	73,1	4
17	BOVIN Ras-related protein Rab-18 OS=Bos taurus	-47,8262	22,9	14
17	HUMAN Ras-related protein Rab-21 OS=Homo sapiens	-9,1589	24,3	3
18	BOVIN Lanosterol synthase OS=Bos taurus	-40,3472	83,0	9
18	MYOLU Uncharacterized protein OS=Myotis lucifugus	-21,5358	83,3	5
19	BOVIN Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1 OS=Bos taurus	-26,8949	40,2	11
19	CL2346Contig1|Frame3|Orf	-27,3398	39,7	9
19	CL538Contig1|Frame2|Orf	-23,9041	40,2	7
19	RABIT Uncharacterized protein OS=Oryctolagus cuniculus	-25,7098	43,8	7
20	CL2110Contig1|Frame2	-24,1251	31,9	6
20	PIG Solute carrier family 9 (Sodium/hydrogen exchanger) member 3 regulator 1 OS=Sus scrofa	-18,1978	39,2	6
21	MONDO Uncharacterized protein (Fragment) OS=Monodelphis domestica	-21,2716	72,5	6
21	RHIFE Na+/glucose co-transporter (Predicted) OS=Rhinolophus ferrumequinum	-26,8137	72,6	6
22	CL45Contig1|Frame3|Orf	-62,0683	58,1	16
23	MOUSE Guanine nucleotide binding protein, beta 2, isoform CRA_a	-33,5737	37,2	11

	OS=Mus musculus			
24	CAMDR Kappa-casein OS=Camelus dromedarius	-31,9381	20,3	10
25	BOVIN Ras-related protein Rap-1A OS=Bos taurus	-24,3930	20,9	9
25	BOVIN Ras-related protein Rap-1b OS=Bos taurus	-23,1390	20,7	9
25	BOVIN NRAS protein OS=Bos taurus	-16,8372	21,1	7
25	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-12,5747	21,3	5
26	BOVIN Elongation factor 2 OS=Bos taurus	-62,7787	95,2	18
27	CL63Contig1|Frame3|Orf	-41,5011	52,6	13
28	CAMDR Alpha-S2-casein OS=Camelus dromedarius	-30,7629	22,9	10
29	Camel1_plate-007_N06.ab1|Frame1|Orf	-21,8382	31,5	5
30	BOVIN Cytoplasmic aconitate hydratase OS=Bos taurus	-42,8221	98,0	11
30	CL4863Contig1|Frame2	-20,8806	33,3	6
31	BOVIN Transforming protein RhoA OS=Bos taurus	-25,7078	21,7	10
32	RAT Cytoplasmic dynein 1 heavy chain 1 OS=Rattus norvegicus	-38,1053	531,6	16
33	CL1516Contig1|Frame2|Orf	-26,8131	37,3	12
33	MOUSE Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD+], cytoplasmic OS=Mus musculus GN=Gpd1 PE=1 SV=3	-16,0998	37,5	7
34	CAMDR Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 OS=Camelus dromedarius	-13,4629	17,2	4
35	CL103Contig1|Frame3|Orf	-23,1151	35,2	6

36	RABIT Uncharacterized protein (Fragment) OS=Oryctolagus cuniculus GN=SLC28A3 PE=4 SV=1	-11,7167	74,8	3
37	CL7164Contig1|Frame2	-26,5699	31,7	9
38	CL288Contig1|Frame3|Orf	-32,5670	47,4	12
39	CL504Contig1|Frame1|Orf	-43,0031	60,4	14
40	BOVIN UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase OS=Bos taurus	-31,4019	56,8	10
41	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Macaca mulatta	-12,0458	28,3	2
41	BOVIN CIDEA protein OS=Bos taurus	-6,9503	24,4	3
41	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-6,9503	12,2	3
42	CAMDR Peroxidase OS=Camelus dromedarius	-49,3449	80,5	12
43	BOVIN ADP-ribosylation factor 3 OS=Bos taurus	-28,9895	20,5	8
43	BOVIN ADP-ribosylation factor 4 OS=Bos taurus	-22,9741	20,4	7
44	PANTR Heat shock protein HSP 90-alpha OS=Pan troglodytes	-39,6793	84,6	11
44	CL327Contig1|Frame2|Orf	-22,2785	76,1	5
45	BOVIN Chloride intracellular channel protein 4 OS=Bos taurus	-18,5114	28,6	6
45	BOVIN Chloride intracellular channel protein 1 OS=Bos taurus	-17,5704	26,9	6
46	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-13,5762	82,9	5
46	MONDO Uncharacterized protein OS=Monodelphis domestica	-12,9661	83,6	4
47	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-40,0000	136,6	12
48	BOVIN Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 OS=Bos taurus	-15,5717	21,4	6

48	BOVIN CDC42 protein OS=Bos taurus GN=CDC42 PE=2 SV=1	-12,4757	21,2	4
49	sp|Q3SZI4|1433T_BOVIN 14-3-3 protein theta OS=Bos taurus	-29,4371	27,7	8
50	BOVIN Polyubiquitin-C OS=Bos taurus GN=UBC PE=1 SV=1	-9,5656	77,4	3
51	CANFA Uncharacterized protein OS=Canis familiaris	-26,8403	70,1	9
52	BOVIN Tubulin beta-3 chain OS=Bos taurus	-15,4747	50,3	5
52	BOVIN Tubulin beta-5 chain OS=Bos taurus	-22,7217	49,5	6
52	BOVIN Tubulin beta-2B chain OS=Bos taurus	-18,8918	49,8	6
53	BOVIN Tubulin alpha-1B chain OS=Bos taurus PE=1 SV=2	-31,3354	50,0	7
54	CL868Contig1|Frame1|Orf	-25,6054	35,4	8
55	CL759Contig1|Frame1|Orf	-21,4378	41,0	7
56	CL1838Contig1|Frame3|Orf	-20,0898	34,2	6
57	CL349Contig1|Frame3|Orf	-19,4683	52,5	8
58	CL537Contig1|Frame2|Orf	-28,6327	59,2	9
59	CL2758Contig1|Frame3|Orf	-23,4246	30,2	8
60	BOVIN Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11 OS=Bos taurus	-17,5380	42,0	7
60	MOUSE Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha OS=Mus musculus	-17,7854	42,0	5
61	CL102Contig1|Frame3|Orf	-23,7870	36,0	6
62	CAMDR Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase OS=Camelus dromedarius	-30,2260	59,2	10
63	CL391Contig1|Frame3|Orf	-23,7242	46,6	9

64	PONAB T-complex protein 1 subunit theta OS=Pongo abelii	-28,6815	59,5	8
65	CL755Contig1|Frame3|Orf	-31,4301	56,4	9
66	BOVIN Eukaryotic initiation factor 4A-I OS=Bos taurus	-16,4572	46,0	7
66	BOVIN Eukaryotic initiation factor 4A-II OS=Bos taurus	-14,8367	46,3	7
67	CL348Contig1|Frame3|Orf	-26,0566	46,5	8
68	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-21,0943	58,0	9
69	BOVIN Cytosol aminopeptidase OS=Bos taurus	-18,8461	56,2	5
70	CL77Contig2|Frame1|Orf	-17,5579	33,3	6
71	BOVIN T-complex protein 1 subunit eta OS=Bos taurus	-25,8556	59,3	9
72	BOVIN Uncharacterized protein (Fragment) OS=Bos taurus	-13,8125	25,1	5
72	BOVIN Ras-related protein Rab-5C OS=Bos taurus	-13,0846	23,4	4
73	CL1891Contig1|Frame2	-27,0723	42,2	8
74	CL465Contig1|Frame1|Orf	-31,5856	55,0	7
75	AILME Uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-25,3979	187,1	6
76	CL1092Contig1|Frame1|Orf	-23,6262	44,2	7
77	HUMAN Hornerin OS=Homo sapiens	-10,4574	282,0	4
78	RAT Syntaxin-3 OS=Rattus norvegicus	-16,1090	33,2	7
79	CAMDR Beta-casein OS=Camelus dromedarius	-15,7559	26,1	5
80	BOVIN Transitional endoplasmic reticulum ATPase OS=Bos taurus	-23,5371	89,2	8

81	BOVIN T-complex protein 1 subunit alpha OS=Bos taurus	-20,4954	60,1	5
82	CANFA Uncharacterized protein OS=Canis familiaris	-19,6048	80,8	6
82	HETGA Acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic OS=Heterocephalus glaber	-21,2790	80,2	5
83	CL206Contig1|Frame1	-25,7887	98,2	8
84	GORGO Uncharacterized protein OS=Gorilla gorilla gorilla	-16,6627	18,3	4
84	GORGO Uncharacterized protein OS=Gorilla gorilla gorilla	-16,6362	16,8	4
85	Camel1_plate-009_K07.ab1|Frame2|Orf	-29,1544	22,9	6
86	CANFA Ribosome-binding protein 1 OS=Canis familiaris	-11,7616	164,3	5
87	BOVIN Poly(rC)-binding protein 1 OS=Bos taurus	-11,5597	37,4	5
87	BOVIN Poly(RC) binding protein 2 OS=Bos taurus	-7,9879	36,7	4
88	CL1466Contig1|Frame1|Orf	-16,3738	52,1	7
89	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-18,8373	41,5	4
90	CANFA Myosin-9 OS=Canis familiaris	-20,2023	226,0	6
91	<<<BOVIN Phosphoglycerate kinase 1 OS=Bos taurus	-18,4375	44,4	5
92	BOVIN Endoplasmin OS=Bos taurus	-19,2498	92,3	7
93	BOVIN 14-3-3 protein epsilon OS=Bos taurus	-18,8088	29,1	6
94	BOVIN GTP-binding protein SAR1b OS=Bos taurus	-6,8917	22,3	3
94	BOVIN GTP-binding protein SAR1a OS=Bos taurus	-7,4892	22,3	3
95	CL653Contig1|Frame2|Orf	-21,9720	59,8	7

96	CL12Contig1|Frame1|Orf	-16,2616	55,9	5
97	CL2459Contig1|Frame1|Orf	-6,5358	30,4	3
98	CANFA Calnexin OS=Canis familiaris	-21,3112	67,5	6
99	BOVIN Coatomer subunit alpha OS=Bos taurus	-16,6186	138,1	6
100	PIG ATP-binding cassette sub-family G member 2 OS=Sus scrofa	-10,2407	72,2	4
101	CL1323Contig1|Frame1|Orf	-18,8756	74,1	7
102	HETGA Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform OS=Heterocephalus glaber	-15,0828	79,2	6
103	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-5,3468	74,0	2
104	CL4514Contig1|Frame1|Orf	-14,0469	34,0	4
105	PONAB Carbonyl reductase [NADPH] 1 OS=Pongo abelii	-7,9590	30,3	3
106	CL5456Contig1|Frame1|Orf	-25,9397	22,9	6
107	MESAU Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] OS=Mesocricetus auratus 3	-11,8675	64,1	5
108	CL7289Contig1|Frame2|Orf	-9,8675	31,5	4
109	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-19,4824	85,5	6
110	MUSVI Lipoprotein lipase OS=Mustela vison	-11,5517	52,8	4
111	PIG Annexin A2 OS=Sus scrofa	-15,9805	38,3	6
112	RAT Moesin OS=Rattus norvegicus	-8,5282	67,6	4
113	Camel3_plate-014_J11.ab1|Frame3	-19,0812	32,1	5

114	BOVIN Coatomer subunit beta OS=Bos taurus	-17,8682	106,9	6
115	CANFA Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis familiaris	-13,1358	40,9	6
116	Camel3_plate-007_F22.ab1|Frame2|Orf	-17,3031	30,5	5
117	CL1348Contig1|Frame1|Orf	-11,6903	37,6	5
118	HETGA Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit OS=Heterocephalus glaber	-12,2115	49,6	6
119	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-10,6138	36,6	4
120	RAT Importin subunit beta-1 OS=Rattus norvegicus	-11,8691	96,9	5
121	BOVIN Fatty acid-binding protein, heart OS=Bos taurus	-8,5786	14,7	2
122	GORGO Uncharacterized protein OS=Gorilla gorilla gorilla	-11,8156	13,5	5
123	RAT Dermcidin OS=Rattus norvegicus	-7,8826	11,2	3
124	CL2702Contig1|Frame2|Orf	-18,8910	18,6	4
125	CL1454Contig1|Frame3|Orf	-11,1267	22,1	5
126	CL318Contig1|Frame3|Orf	-13,5816	49,3	5
126	AILME Uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-13,5816	48,1	5
127	CL239Contig1|Frame2|Orf	-7,3468	33,9	2
128	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-7,0189	23,4	3
128	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-11,2430	25,5	3
129	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-10,4261	28,6	5
130	BOVIN Aspartyl-tRNA synthetase, cytoplasmic OS=Bos taurus	-12,6373	56,9	5

131	BOVIN RTN4 protein OS=Bos taurus	-13,5394	40,8	5
132	CL271Contig1|Frame3|Orf	-14,4157	69,4	5
133	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-11,0827	26,2	3
134	BOVIN 26S protease regulatory subunit 10B OS=Bos taurus	-11,2113	44,0	5
135	CL5799Contig1|Frame3|Orf	-12,1475	18,9	4
136	CL1452Contig1|Frame1|Orf	-12,5092	42,0	5
137	PONAB Putative uncharacterized protein DKFZp459K1410 OS=Pongo abelii	-6,7644	28,8	3
137	HORSE Tropomyosin alpha-4 chain OS=Equus caballus	-7,8315	28,4	3
138	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-15,0362	27,6	4
139	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-19,3296	19,5	5
140	HORSE Elongation factor 1-gamma OS=Equus caballus	-12,5635	49,9	4
141	HORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-14,2161	26,7	3
142	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-10,7058	60,5	5
143	CL5Contig8|Frame3|Orf	-15,3056	53,4	4
143	CL5Contig6|Frame1	-15,3056	48,6	4
144	RAT Ras-related protein Rab-2A OS=Rattus norvegicus	-17,5693	23,4	5
145	CL3052Contig1|Frame3	-10,2817	35,8	4
146	BOVIN Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A OS=Bos taurus	-12,9900	17,8	4
147	HUMAN cDNA, FLJ94434, highly similar to Homo sapiens platelet-activating factor acetylhydrolase 2, 40kDa (PAFAH2), mRNA OS=Homo	-9,0266	43,9	4

	sapiens			
148	BOVIN Nicotinate phosphoribosyltransferase OS=Bos taurus	-13,2937	57,7	4
149	HORSE Adenosylhomocysteinase OS=Equus caballus	-15,5847	47,6	4
150	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-9,3609	59,0	4
151	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-13,0710	80,5	3
152	CAMDR Peptidoglycan recognition protein 1 OS=Camelus dromedarius	-12,1513	21,3	4
153	CL114Contig1|Frame3|Orf	-16,5704	85,5	4
154	SHEEP Elongation factor 1-delta OS=Ovis aries	-10,8906	30,7	3
155	CL1397Contig1|Frame2|Orf	-10,9039	23,5	4
156	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-10,2457	139,4	4
157	BOVIN OTU domain, ubiquitin aldehyde binding 1 OS=Bos taurus	-7,4421	31,2	3
158	tHORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-9,9175	68,8	4
159	CL291Contig2|Frame3|Orf	-9,4241	28,9	4
160	CL61Contig1|Frame2|Orf	-10,3412	38,4	4
161	HETGA Histone H2A type 1 OS=Heterocephalus glaber	-8,7983	29,5	3
162	CL6473Contig1|Frame1	-8,8416	32,0	2
163	tHORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-10,4038	52,2	4
164	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa GN=CAPG PE=4 SV=1	-7,8945	38,8	2
165	MOUSE Cofilin-1 OS=Mus musculus	-10,3919	18,5	3

166	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-13,5320	33,1	3
167	BOVIN 60S acidic ribosomal protein P0 OS=Bos taurus	-11,7178	34,3	4
167	BOVIN 60S acidic ribosomal protein P0 OS=Bos taurus	-11,7178	34,3	4
168	BOVIN Vesicle-associated membrane protein-associated protein A OS=Bos taurus	-9,4202	27,8	3
168	BOVIN Vesicle-associated membrane protein-associated protein B OS=Bos taurus	-6,5751	27,1	2
169	CL1200Contig1|Frame1|Orf	-7,9680	57,2	3
170	trHORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-8,1325	48,0	4
171	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-8,7657	55,6	3
172	PIG Caspase-8 OS=Sus scrofa PE=2 SV=2	-8,5739	56,2	3
173	CL242Contig1|Frame3|Orf	-14,0042	52,2	4
174	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-9,3536	20,1	3
175	HORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-8,3634	29,1	2
176	CANFA Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis familiaris	-12,5203	41,7	3
177	BOVIN Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit M OS=Bos taurus	-11,7515	42,3	4
178	BOVIN Alpha-actinin-4 OS=Bos taurus	-9,7228	104,7	4
179	PONAB 14-3-3 protein beta/alpha OS=Pongo abelii	-11,1103	28,0	4
179	PONAB 14-3-3 protein beta/alpha OS=Pongo abelii	-11,1103	28,0	4
180	BOVIN AP-2 complex subunit alpha-2 OS=Bos taurus	-11,3956	103,6	4

181	BOVIN Ras-related protein Rab-7a OS=Bos taurus	-15,5292	23,4	4
182	MACMU Uncharacterized protein OS=Macaca mulatta	-11,4535	21,1	3
183	AILME Putative uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-17,5190	118,5	4
184	CL208Contig1|Frame1|Orf	-5,9252	35,6	3
185	Camel1_plate-028_C17.ab1|Frame3|Orf	-8,2764	20,0	3
186	HORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-6,1514	213,1	3
187	BOVIN 14-3-3 protein gamma OS=Bos taurus	-5,2132	28,2	2
188	GORGO Uncharacterized protein OS=Gorilla gorilla gorilla	-7,7083	36,0	3
189	BOVIN Uncharacterized protein (Fragment) OS=Bos taurus	-6,7598	106,1	3
190	RAT Gamma-glutamyltranspeptidase 1 OS=Rattus norvegicus	-5,2218	61,5	2
191	CL5355Contig1|Frame1|Orf	-7,9119	36,3	2
192	G06.ab1(2)|Frame2|Orf	-8,5442	26,6	2
193	LOXAF Uncharacterized protein OS=Loxodonta africana	-4,1898	35,6	2
193	Camel2_plate-064_M11.ab1|Frame2|Orf	-4,5751	26,2	2
194	HETGA Galactokinase OS=Heterocephalus glaber	-10,1472	50,4	3
195	HUMAN Keratin-associated protein 10-10 OS=Homo sapiens	-8,7217	25,5	3
196	BOVIN Phosphoglucomutase-1 OS=Bos taurus	-7,2348	61,5	3
197	PONAB Transmembrane protein 206 OS=Pongo abelii	-7,2741	39,9	3
198	CL2466Contig1|Frame2	-10,6602	13,2	3

199	HUMAN Keratin, type I cytoskeletal 39 OS=Homo sapiens	-10,0980	55,5	3
200	CL764Contig1|Frame1|Orf	-8,8447	57,2	3
201	CL1122Contig1|Frame2|Orf	-6,0671	40,8	3
202	BOVIN 26S protease regulatory subunit 8 OS=Bos taurus	-8,5956	45,5	3
203	SHEEP CD11b OS=Ovis aries PE=2 SV=1	-8,2942	127,4	3
204	BOVIN Coatomer subunit delta OS=Bos taurus	-7,7196	57,1	3
205	BOVIN 40S ribosomal protein S3 OS=Bos taurus	-11,9017	26,6	3
206	BOVIN MLEC protein OS=Bos taurus	-7,3073	31,5	3
207	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-9,0061	91,7	2
208	AILME Putative uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-10,2662	22,0	3
208	MACMU Uncharacterized protein OS=Macaca mulatta	-10,2662	22,4	3
208	tCALJA Uncharacterized protein OS=Callithrix jacchus	-10,2662	22,1	3
208	AILME Uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-10,2662	22,3	3
208	CALJA Uncharacterized protein OS=Callithrix jacchus	-10,2662	15,6	3
209	CL728Contig2|Frame1|Orf	-7,9002	30,1	3
210	sHUMAN V-set and immunoglobulin domain-containing protein 8 OS=Homo sapiens	-10,7625	43,8	2
211	BOVIN DnaJ homolog subfamily A member 1 OS=Bos taurus	-5,6819	44,8	3
212	CL292Contig1|Frame3|Orf	-8,5819	30,1	2

213	BOVIN RRAS2 protein OS=Bos taurus	-5,0773	23,3	2
214	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-4,6531	85,1	3
215	CAPHI Peroxiredoxin V (PrxV) protein OS=Capra hircus	-5,5867	22,9	2
216	MOUSE TBC1 domain family member 4 OS=Mus musculus	-8,3996	147,2	3
217	BOVIN PCYOX1 protein OS=Bos taurus	-6,6655	56,7	2
218	CL2254Contig1|Frame1|Orf	-6,7467	34,5	3
219	BOVIN Hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 11 OS=Bos taurus	-4,4815	35,0	2
220	BOVIN Polyadenylate-binding protein 1 OS=Bos taurus	-6,0917	70,5	3
221	CANFA Uncharacterized protein OS=Canis familiaris	-4,0110	36,9	2
222	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-12,8362	91,2	3
223	HORSE 6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating (Fragment) OS=Equus caballus	-8,2184	53,1	3
224	MACMU Lysyl-tRNA synthetase OS=Macaca mulatta	-5,6470	71,2	2
225	RAT Niban-like protein 1 OS=Rattus norvegicus	-6,9337	84,6	3
226	CANFA Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis familiaris	-7,9208	35,1	2
227	BOVIN DnaJ homolog subfamily A member 2 OS=Bos taurus	-10,4076	45,6	3
228	BOVIN 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 7 OS=Bos taurus	-9,7043	36,6	3
229	Camel1_plate-032_B10.ab1|Frame1|Orf	-8,8386	30,9	3
230	BOVIN Surfeit locus protein 4 OS=Bos taurus	-7,7413	30,3	3
231	BOVIN 40S ribosomal protein S2 OS=Bos taurus	-6,4085	31,1	3

232	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-7,1608	103,4	3
233	BOVIN Ubiquitin conjugation factor E4 A OS=Bos taurus	-5,4401	122,4	2
234	MACMU Uncharacterized protein OS=Macaca mulatta	-6,0772	64,3	3
235	MOUSE MKIAA1375 protein (Fragment) OS=Mus musculus	-9,9513	100,0	3
236	MOUSE DnaJ homolog subfamily C member 3 OS=Mus musculus	-5,5474	57,3	3
237	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-5,8529	48,8	2
238	CL4107Contig1|Frame-1|Orf	-7,2558	36,3	3
239	MACMU Uncharacterized protein OS=Macaca mulatta	-9,6915	114,7	3
240	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-4,0799	45,7	2
241	LOXAF Uncharacterized protein OS=Loxodonta africana	-5,0410	109,0	2
242	Camel2_plate-039_L21.ab1|Frame1|Orf	-13,8611	17,0	3
243	MOUSE AP-1 complex subunit beta-1 OS=Mus musculus	-5,5360	103,7	2
244	HUMAN Protein S100-A3 OS=Homo sapiens	-12,8861	11,6	3
245	NOMLE Uncharacterized protein OS=Nomascus leucogenys	-4,2899	229,3	2
246	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-5,8794	41,0	2
247	BOVIN Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I OS=Bos taurus	-5,6308	36,4	2
248	LOXAF Uncharacterized protein OS=Loxodonta africana	-4,9431	38,0	2
249	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-7,2962	35,9	2
250	CL9Contig13|Frame2|Orf	-5,4067	41,1	2

251	BOVIN Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit L OS=Bos taurus	-6,2343	66,6	2
252	CL520Contig1|Frame3|Orf	-6,4225	43,8	2
253	HUMAN Keratin-associated protein 10-11 OS=Homo sapiens	-4,1524	30,1	2
254	GORGO Uncharacterized protein OS=Gorilla gorilla gorilla	-8,2306	25,7	2
255	BOVIN 5'-AMP-activated protein kinase subunit gamma-1 OS=Bos taurus	-4,3526	37,4	2
256	BOVIN LMAN1 protein OS=Bos taurus	-6,5686	57,9	2
257	PANTR cAMP-dependent protein kinase type II-alpha regulatory subunit OS=Pan troglodytes PE=2 SV=1	-5,2676	45,4	2
258	AILME Putative uncharacterized protein (Fragment) OS=Ailuropoda melanoleuca	-6,5544	62,7	2
259	BOVIN 26S protease regulatory subunit 7 OS=Bos taurus	-7,2518	48,5	2
260	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-4,9940	59,6	2
261	BOVIN F-actin-capping protein subunit beta OS=Bos taurus	-5,8901	33,6	2
262	BOVIN V-type proton ATPase subunit d 1 OS=Bos taurus	-6,6176	40,2	2
263	BOVIN 40S ribosomal protein S23 OS=Bos taurus	-6,1296	15,7	2
264	Camel2_plate-015_G01.ab1|Frame2|Orf	-4,9219	24,7	2
265	RAT Drebrin-like protein OS=Rattus norvegicus	-7,7809	48,5	2
266	LOXAF Uncharacterized protein (Fragment) OS=Loxodonta africana	-8,0835	58,3	2
267	sCAMDR Lactotransferrin OS=Camelus dromedarius	-5,3893	77,1	2
268	MYOLU Uncharacterized protein OS=Myotis lucifugus	-9,0472	100,7	2

269	BOVIN 60S ribosomal protein L18a OS=Bos taurus	-6,8187	20,7	2
270	CL957Contig1|Frame3|Orf	-4,8047	35,8	2
271	BOVIN Fructose-bisphosphate aldolase OS=Bos taurus	-16,1397	39,3	2
272	BOVIN CHMP4B protein OS=Bos taurus	-4,5075	24,8	2
273	PIG 1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 6 OS=Sus scrofa	-6,1156	51,9	2
274	BOVIN Vacuolar protein sorting-associated protein 26A OS=Bos taurus	-6,8601	38,0	2
275	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-4,6851	144,4	2
276	BOVIN SLC11A2 protein OS=Bos taurus	-9,0535	61,3	2
277	BOVIN Heat shock 70kD protein binding protein OS=Bos taurus	-8,1974	41,3	2
278	BOVIN Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 OS=Bos taurus	-5,3508	16,7	2
279	BOVIN FAR1 protein OS=Bos taurus	-10,4587	59,3	2
280	BOVIN Rho GDP-dissociation inhibitor 1 OS=Bos taurus	-10,7953	23,3	2
281	Uncharacterized protein OS=Canis familiaris GN=MYO6 PE=4 SV=1	-6,9385	148,1	2
282	BOVIN Stress-induced-phosphoprotein 1 OS=Bos taurus	-7,2676	62,3	2
283	BOVIN Synaptobrevin homolog YKT6 OS=Bos taurus	-6,4881	22,4	2
284	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-9,2396	52,4	2
285	BOVIN 40S ribosomal protein S8 OS=Bos taurus	-5,3915	24,1	2
286	Camel3_plate-015_N11.ab1|Frame1|Orf	-4,3565	27,8	2
287	BOVIN Proteasome (Prosome, macropain) 26S subunit, ATPase, 1 OS=Bos taurus	-6,6364	49,1	2

288	CANFA Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis familiaris	-7,2924	30,2	2
289	CL656Contig1|Frame2|Orf	-6,4949	41,3	2
290	BOVIN 40S ribosomal protein S26 OS=Bos taurus	-6,1096	12,9	2
291	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus GN=SRM PE=3 SV=1	-7,1331	33,8	2
292	RAT ATPase, Class I, type 8B, member 1 (Predicted) OS=Rattus norvegicus	-4,7447	144,5	2
293	BOVIN GCK protein OS=Bos taurus	-7,8368	52,1	2
294	CALJA Uncharacterized protein OS=Callithrix jacchus	-5,2518	30,2	2
295	CL2104Contig1|Frame1	-7,5642	39,7	2
296	CL661Contig1|Frame3	-5,7447	36,0	2
297	BOVIN Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B OS=Bos taurus	-4,6607	23,6	2
298	BOVIN PDIA6 protein (Fragment) OS=Bos taurus	-8,7655	49,5	2
299	CL1153Contig1|Frame3|Orf	-5,6299	61,9	2
300	BOVIN Elongation factor 1-beta OS=Bos taurus	-6,3788	24,7	2
301	BOVIN Arginyl-tRNA synthetase, cytoplasmic OS=Bos taurus	-7,1634	75,4	2
302	MOUSE Alanyl-tRNA synthetase, cytoplasmic OS=Mus musculus	-4,4023	106,7	2
303	CANFA Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis familiaris	-4,1726	39,3	2
304	BOVIN Glycerol kinase OS=Bos taurus	-4,8955	61,1	2
305	BOVIN Proteasome activator complex subunit 1 OS=Bos taurus	-6,4157	28,6	2
306	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-8,3565	51,3	2

307	BOVIN Transmembrane emp24 domain-containing protein 10 OS=Bos taurus	-8,8904	24,7	2
308	Camel2_plate-007_A05.ab1|Frame2|Orf	-7,0061	25,6	2
309	CL1699Contig1|Frame1	-7,0650	35,8	2
310	BOVIN DEAD box polypeptide 3 Y-linked long isoform OS=Bos taurus	-6,0269	73,1	2
311	CL423Contig1|Frame1|Orf	-4,2132	26,6	2
312	BOVIN Eukaryotic translation elongation factor 1 epsilon 1 OS=Bos taurus	-6,8204	19,7	2
313	MOUSE Lims E protein OS=Mus musculus	-4,3565	44,2	2
314	MYOLU Uncharacterized protein OS=Myotis lucifugus	-4,2426	40,1	2
315	MYOLU Uncharacterized protein OS=Myotis lucifugus	-4,0937	64,2	2
316	HORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-10,6198	278,3	2
317	CL2946Contig1|Frame2	-7,1871	33,9	2
318	RAT Seryl-tRNA synthetase, cytoplasmic OS=Rattus norvegicus	-4,0269	58,5	2
319	CL830Contig1|Frame2|Orf	-5,2823	36,3	2
320	CRIGR Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3 (Fragment) OS=Cricetulus griseus	-7,9618	29,0	2
321	MOUSE Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F OS=Mus musculus	-7,5194	37,9	2
322	BOVIN Ubiquitin isopeptidase T (Fragment) OS=Bos taurus	-5,6576	79,9	2

ANNEXE 8

Classification des protéines identifiées de la membrane de globule gras du lait de dromadaire selon leurs fonctions biologiques

Annotation DAVID (ordre croissant de P-value)	
Gene Ontologie	**Numéro d'accession**
Protéines de transport (*P*-Value = 1.73E-14)	
14-3-3 protein beta/alpha	P31946
14-3-3 protein epsilon	P62258
14-3-3 protein gamma	P61981
14-3-3 protein theta	P27348
14-3-3 protein zeta/delta	P63104
Alpha-actinin-4	O43707
AP-1 complex subunit beta-1	Q10567
AP-1 complex subunit gamma-1	O43747
AP-1 complex subunit mu-2	Q9Y6Q5
AP-2 complex subunit alpha-2	O94973
ADP-ribosylation factor 1	P84077
ADP-ribosylation factor 6	P62330
Calreticulin	P27797
Calnexin	P27824
Platelet glycoprotein 4 (CD antigen CD36)	P16671
Charged multivesicular body protein 4b	Q9H444
Clathrin heavy chain 1	Q00610
Coatomer subunit alpha	P53621
Coatomer subunit beta	P53618
Coatomer subunit delta	P48444
Coatomer subunit gamma-1	Q9Y678
Endoplasmin (GRP-94)	P14625
PDZ domain-containing protein GIPC1	O14908
Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	P63241
Importin subunit beta-1	Q14974
Protein ERGIC-53	P49257
Tyrosine-protein kinase Lyn (EC 2.7.10.2)	P07948
Myosin-9	P35579
Unconventional myosin-Ic	O00159
Unconventional myosin-VI	Q9UM54
Programmed cell death 6-interacting protein	Q8WUM4
Protein disulfide-isomerase A3 (EC 5.3.4.1)	P30101
Ras-related protein Rab-18	Q9NP72
Ras-related protein Rab-1A	P62820
Ras-related protein Rab-2A	P61019
Ras-related protein Rab-5B	P61020
Ras-related protein Rab-7a	P51149
Ras-related protein Rab-11B	Q15907
Ribosome-binding protein 1	Q9P2E9
GTP-binding protein SAR1b	Q9Y6B6

Selenium-binding protein 1	Q13228
Vesicle-trafficking protein SEC22b	O75396
Alpha-soluble NSF attachment protein (SNAP-alpha)	P54920
Synaptosomal-associated protein 23 (SNAP-23)	O00161
Translocon-associated protein subunit alpha (TRAP-alpha)	P43307
Translocon-associated protein subunit delta (TRAP-delta)	P51571
Syntaxin-3	Q13277
Syntaxin-7	O15400
Syntaxin-binding protein 2 (Protein unc-18 homolog 2)	Q15833
Transitional endoplasmic reticulum ATPase	P55072
Transmembrane emp24 domain-containing protein 10	P49755
Vacuolar protein sorting-associated protein 26A	O75436
Synaptobrevin homolog YKT6 (EC 2.3.1.-)	O15498
Traduction (*P*-Value = 1.08E-11)	
Elongation factor 1-alpha 1	P68104
Elongation factor 1-beta	P24534
Elongation factor 1-delta	P29692
Elongation factor 1-gamma	P26641
Elongation factor 2 (EF-2)	P13639
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F (eIF3f)	O00303
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I (eIF3i)	Q13347
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit L (eIF3l)	Q9Y262
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit M (eIF3m)	Q7L2H7
Eukaryotic initiation factor 4A-I (EC 3.6.4.13)	P60842
Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 (eIF-5A-1)	P63241
Eukaryotic translation initiation factor 5 (eIF-5)	P55010
Eukaryotic translation elongation factor 1 epsilon-1	O43324
60S ribosomal protein L18a	Q02543
60S acidic ribosomal protein P0	P05388
Ribosome-binding protein 1	Q9P2E9
40S ribosomal protein S23	P62266
40S ribosomal protein S26	P62854
40S ribosomal protein S2	P15880
40S ribosomal protein S3	P23396
40S ribosomal protein S8	P62241
Alanine--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.7)	P49588
Aspartate--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.12)	P14868
Isoleucine--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.5)	P41252
Lysine--tRNA ligase (EC 6.1.1.6)	Q15046
Methionine--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.10)	P56192
Asparagine--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.22)	O43776
Arginine--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.19)	P54136
Serine--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.11)	P49591
Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.2)	P23381
Tyrosine--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.1)	P54577
Métabolisme des lipides (*P*-Value = 6.72E-08)	
3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 7 (EC 1.1.1.-)	Q9H2F3
5'-AMP-activated protein kinase subunit gamma-1	P54619
1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase ABHD5 (EC 2.3.1.51) (Lipid droplet-binding protein CGI-58)	Q8WTS1

Acetyl-CoA carboxylase 1 (EC 6.4.1.2)	Q13085
Acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic (EC 6.2.1.1)	Q9NR19
Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 3 (EC 6.2.1.3)	O95573
Apolipoprotein A-I	P02647
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 11 (EC 1.1.1.62)	Q8NBQ5
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 12 (EC 1.1.1.62)	Q53GQ0
3-keto-steroid reductase (EC 1.1.1.270)	P56937
7-dehydrocholesterol reductase (7-DHC reductase) (EC 1.3.1.21)	Q9UBM7
Squalene monooxygenase (EC 1.14.13.132)	Q14534
Lanosterol synthase (EC 5.4.99.7)	P48449
Fatty acid-binding protein, heart	P05413
Fatty acyl-CoA reductase 1 (EC 1.2.1.n2)	Q8WVX9
Fatty acid synthase (EC 2.3.1.85)	P49327
Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase (EC 1.1.1.49)	P11413
Bifunctional UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase (EC 5.1.3.14) (EC 2.7.1.60)	Q9Y223
Glycerol-3-phosphate acyltransferase 4 (EC 2.3.1.15)	Q86UL3
Lipoprotein lipase (LPL) (EC 3.1.1.34)	P06858
Lysophospholipid acyltransferase 5 (EC 2.3.1.-)	Q6P1A2
Myelin proteolipid protein (Lipophilin)	P60201
NADH-cytochrome b5 reductase 3 (EC 1.6.2.2)	P00387
Sterol-4-alpha-carboxylate 3-dehydrogenase (EC 1.1.1.170)	Q15738
Sialic acid synthase (EC 2.5.1.56)	Q9NR45
Métabolisme d'hexoses (*P*-Value= 1.89E-04)	
6-phosphogluconate dehydrogenase (EC 1.1.1.44)	P52209
Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.2)	P14550
Fructose-bisphosphate aldolase A (EC 4.1.2.13)	P04075
GDP-L-fucose synthase (EC 1.1.1.271)	Q13630
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (EC 1.2.1.12)	P04406
Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase (G6PD) (EC 1.1.1.49)	P11413
Galactokinase (EC 2.7.1.6)	P51570
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (EC 1.1.1.8)	P21695
Glucokinase (EC 2.7.1.2)	P35557
Pyruvate kinase isozymes M1/M2 (EC 2.7.1.40)	P14618
Malate dehydrogenase, cytoplasmic (EC 1.1.1.37)	P40925
Phosphoglycerate kinase 1 (EC 2.7.2.3)	P00558
Phosphoglucomutase-1 (PGM 1) (EC 5.4.2.2)	P36871
UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase (EC 2.7.7.9)	Q16851
Organization du cytosquelette (*P*-Value = 2.72E-04)	
Actin, cytoplasmic 2	P63261
Alpha-actinin-4	O43707
Fructose-bisphosphate aldolase A (EC 4.1.2.13)	P04075
ADP-ribosylation factor 6	P62330
Calreticulin	P27797
Adenylyl cyclase-associated protein 1	Q01518
F-actin-capping protein subunit beta	P47756
Cofilin-1	P23528
Filamin-B	O75369
Gelsolin	P06396
Myosin-9	P35579

Plastin-2	P13796
Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1	P63000
Ras-related protein Ral-A	P11233
Transforming protein RhoA	P61586

ANNEXE 9

Classification des protéines identifiées de la membrane de globules gras du lait de dromadaire selon leurs fonctions moléculaires.
Annotation DAVID (ordre croissant de P-value)

Nom	Nombre	pourcentage	P-value
GO:0051082~unfolded protein binding	19	6,0	2,07E-11
GO:0032553~ribonucleotide binding	75	23,7	4,61E-09
GO:0032555~purine ribonucleotide binding	75	23,7	4,61E-09
GO:0017076~purine nucleotide binding	77	24,4	5,61E-09
GO:0000166~nucleotide binding	85	26,9	9,75E-09
GO:0003924~GTPase activity	21	6,6	1,43E-08
GO:0016875~ligase activity, forming carbon-oxygen bonds	10	3,2	4,08E-07
GO:0016876~ligase activity, forming aminoacyl-tRNA and related compounds	10	3,2	4,08E-07
GO:0004812~aminoacyl-tRNA ligase activity	10	3,2	4,08E-07
GO:0008135~translation factor activity, nucleic acid binding	12	3,8	5,41E-06
GO:0001882~nucleoside binding	60	19,0	6,51E-06
GO:0005525~GTP binding	23	7,3	9,50E-06
GO:0032559~adenyl ribonucleotide binding	56	17,7	1,30E-05
GO:0030554~adenyl nucleotide binding	58	18,4	1,42E-05
GO:0019001~guanyl nucleotide binding	23	7,3	1,43E-05
GO:0032561~guanyl ribonucleotide binding	23	7,3	1,43E-05

GO:0001883~purine nucleoside binding	58	18,4	2,21E-05
GO:0005524~ATP binding	54	17,1	3,73E-05
GO:0003746~translation elongation factor activity	6	1,9	1,11E-04
GO:0003729~mRNA binding	8	2,5	4,07E-04
GO:0016887~ATPase activity	18	5,7	5,80E-04
GO:0003779~actin binding	17	5,4	1,23E-03
GO:0048029~monosaccharide binding	6	1,9	1,32E-03
GO:0033764~steroid dehydrogenase activity, acting on the CH-OH group of donors, NAD or NADP as acceptor	5	1,6	2,14E-03
GO:0016229~steroid dehydrogenase activity	5	1,6	3,60E-03
GO:0043499~eukaryotic cell surface binding	4	1,3	4,77E-03
GO:0048037~cofactor binding	13	4,1	5,63E-03
GO:0030246~carbohydrate binding	16	5,1	6,94E-03
GO:0032403~protein complex binding	11	3,5	7,56E-03
GO:0001846~opsonin binding	3	0,9	8,32E-03
GO:0003743~translation initiation factor activity	6	1,9	8,38E-03
GO:0008289~lipid binding	18	5,7	1,22E-02
GO:0050662~coenzyme binding	10	3,2	1,29E-02
GO:0030674~protein binding, bridging	7	2,2	1,31E-02
GO:0042802~identical protein binding	23	7,3	1,33E-02

GO:0004579~dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycotransferase activity	3	0,9	1,39E-02
GO:0042834~peptidoglycan binding	3	0,9	1,39E-02
GO:0003756~protein disulfide isomerase activity	3	0,9	1,39E-02
GO:0016864~intramolecular oxidoreductase activity, transposing S-S bonds	3	0,9	1,39E-02
GO:0005544~calcium-dependent phospholipid binding	4	1,3	1,59E-02
GO:0004576~oligosaccharyl transferase activity	3	0,9	1,71E-02
GO:0016862~intramolecular oxidoreductase activity, interconverting keto- and enol-groups	3	0,9	1,71E-02
GO:0008092~cytoskeletal protein binding	19	6,0	1,74E-02
GO:0051219~phosphoprotein binding	4	1,3	1,76E-02
GO:0043498~cell surface binding	4	1,3	2,14E-02
GO:0051015~actin filament binding	5	1,6	2,36E-02
GO:0004303~estradiol 17-beta-dehydrogenase activity	3	0,9	2,44E-02
GO:0042623~ATPase activity, coupled	12	3,8	2,59E-02
GO:0008329~pattern recognition receptor activity	3	0,9	3,28E-02
GO:0070325~lipoprotein receptor binding	3	0,9	3,73E-02
GO:0050661~NADP or NADPH binding	4	1,3	3,76E-02
GO:0003755~peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity	4	1,3	4,04E-02
GO:0004806~triacylglycerol lipase activity	3	0,9	4,21E-02
GO:0016859~cis-trans isomerase activity	4	1,3	4,61E-02

GO:0016298~lipase activity	6	1,9	5,60E-02
GO:0019200~carbohydrate kinase activity	3	0,9	6,32E-02
GO:0042625~ATPase activity, coupled to transmembrane movement of ions	5	1,6	6,66E-02
GO:0005484~SNAP receptor activity	3	0,9	6,89E-02
GO:0000049~tRNA binding	3	0,9	6,89E-02
GO:0016209~antioxidant activity	4	1,3	7,26E-02
GO:0051287~NAD or NADH binding	4	1,3	7,26E-02
GO:0005543~phospholipid binding	8	2,5	7,42E-02
GO:0042626~ATPase activity, coupled to transmembrane movement of substances	6	1,9	7,51E-02
GO:0043492~ATPase activity, coupled to movement of substances	6	1,9	7,74E-02
GO:0031406~carboxylic acid binding	7	2,2	7,80E-02
GO:0016820~hydrolase activity, acting on acid anhydrides, catalyzing transmembrane movement of substances	6	1,9	7,98E-02
GO:0004815~aspartate-tRNA ligase activity	2	0,6	8,01E-02
GO:0050815~phosphoserine binding	2	0,6	8,01E-02
GO:0003987~acetate-CoA ligase activity	2	0,6	8,01E-02
GO:0016620~oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors, NAD or NADP as acceptor	3	0,9	8,09E-02
GO:0016208~AMP binding	3	0,9	8,71E-02
GO:0015662~ATPase activity, coupled to transmembrane movement of ions, phosphorylative mechanism	4	1,3	9,61E-02

GO:0060228~phosphatidylcholine-sterol O-acyltransferase activator activity	2	0,6	9,91E-02
GO:0016019~peptidoglycan receptor activity	2	0,6	9,91E-02
GO:0030247~polysaccharide binding	7	2,2	9,96E-02
GO:0001871~pattern binding	7	2,2	9,96E-02

ANNEXE 10

187 protéines de la membrane de globules gras du lait de lama identifiées par LC/MS-MS

Groupe de protéines	Protéines identifiées/Espèce	Log (E-value)	Masse moléculaire (Da)	Nombres de peptides uniques
1	Lactadherin precursor-like protein [Camelus ferus]	-385,556	56,2	50
1	milk fat globule EGF factor 8 [Camelus dromedarius]	-377,128	32,7	51
2	xanthine dehydrogenase/oxidase [Camelus ferus]	-622,595	150,0	90
3	butyrophilin subfamily 1 member A1 precursor [Camelus ferus]	-295,538	51,1	38
3	hypothetical protein CB1_000595010 [Camelus ferus]	-10,191	112,4	2
4	perilipin-2 isoform 1 [Camelus ferus]	-233,854	47,2	31
5	acetyl-Coenzyme A carboxylase alpha isoform 1 isoform 1-like protein [Camelus ferus]	-207,357	258,5	46
6	polyubiquitin [Camelus dromedarius]	-53,602	12,2	9
6	hypothetical protein CB1_000083007 [Camelus ferus]	-42,493	8,6	7
7	ras-related protein Rab-1A isoform 1 [Camelus ferus]	-80,279	18,8	13
7	hypothetical protein CB1_000429033 [Camelus ferus]	-53,593	53,0	8
7	ras-related protein Rab-3D-like protein [Camelus ferus]	-43,354	24,3	9

7	ras-related protein Rab-15-like protein [Camelus ferus]	-20,911	24,2	6
7	hypothetical protein CB1_000172007 [Camelus ferus]	-17,017	75,0	4
7	ras-related protein Rab-6A [Camelus ferus]	-20,780	41,2	5
7	ras-related protein Rab-35-like protein [Camelus ferus]	-14,487	21,6	4
7	hypothetical protein CB1_001328020 [Camelus ferus]	-17,432	61,1	3
7	ras-related protein Rab-33B [Camelus ferus]	-15,277	23,8	4
7	ras-related protein Rab-14 [Camelus ferus]	-9,713	14,8	3
7	hypothetical protein CB1_000477015 [Camelus ferus]	-20,245	13,1	3
7	ras-related protein Rab-26 [Camelus ferus]	-8,056	24,9	2
8	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 2 isoform 2-like protein [Camelus ferus]	-126,526	137,5	22
8	plasma membrane calcium ATPase 1 isoform 1b isoform 21-like protein [Camelus ferus]	-45,196	104,9	8
9	tyrosine-protein kinase Lyn isoform 1 [Camelus ferus]	-117,166	48,9	19
9	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase YES-like protein [Camelus ferus]	-56,326	44,8	12
10	sodium-dependent phosphate transport protein 2B-like protein [Camelus ferus]	-88,425	75,4	14
11	actin, cytoplasmic 1 [Camelus ferus]	-121,456	41,6	20
11	ACTB_CAMDR RecName: Full=Actin, cytoplasmic 1; AltName: Full=Beta-actin; Contains: RecName: Full=Actin, cytoplasmic 1, N-terminally processed	-121,456	41,7	20
11	hypothetical protein CB1_000252031 [Camelus ferus]	-57,860	157,8	11
12	lactoferrin [Camelus dromedarius]	-165,374	77,1	32

12	TRFL_CAMDR RecName: Full=Lactotransferrin; Short=Lactoferrin; Flags: Precursor	-138,042	77,1	28
12	lactoferrin [Camelus dromedarius]	-138,042	77,1	28
13	fatty acid synthase [Camelus ferus]	-87,319	289,1	22
14	long-chain-fatty-acid--CoA ligase 3 isoform 2 [Camelus ferus]	-79,988	63,8	13
14	long-chain-fatty-acid--CoA ligase 4 isoform 3 [Camelus ferus]	-14,196	61,2	3
15	elongation factor 1-alpha 1 [Camelus ferus]	-49,478	54,4	8
15	hypothetical protein CB1_000220004 [Camelus ferus]	-15,646	142,5	4
16	lanosterol synthase [Camelus ferus]	-87,566	58,0	13
17	ATP synthase subunit beta, mitochondrial isoform 1 [Camelus ferus]	-21,302	65,3	3
18	guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-2 [Camelus ferus]	-81,676	23,9	11
18	guanine nucleotide-binding protein G(k) subunit alpha [Camelus ferus]	-83,247	40,4	11
18	hypothetical protein CB1_000145026 [Camelus ferus]	-15,601	18,2	3
19	L-amino-acid oxidase [Camelus ferus]	-102,881	55,3	15
20	CASA1_CAMDR RecName: Full=Alpha-S1-casein; Flags: Precursor	-52,301	26,8	11
20	casein [Camelus dromedarius]	-52,301	25,7	11
21	glucose-regulated protein precursor [Camelus ferus]	-103,426	72,1	19
21	heat shock protein 70 1A [Camelus dromedarius]	-37,886	70,0	8
21	heat shock protein 70 A1B [Camelus dromedarius]	-37,886	70,0	8
21	heat shock cognate protein [Camelus ferus]	-22,114	71,1	5

22	immunoglobulin G1b constant region [Lama glama]	-52,020	35,7	9
22	immunoglobulin heavy chain constant region of tetrameric IgG1b membrane form [Vicugna pacos]	-52,020	43,5	9
22	immunoglobulin heavy chain constant region of tetrameric IgG1b secreted form [Vicugna pacos]	-52,020	35,7	9
22	immunoglobulin heavy chain constant region of homodimeric IgG2c membrane form [Vicugna pacos]	-28,724	33,9	7
22	immunoglobulin heavy chain constant region of homodimeric IgG2c secreted form [Vicugna pacos]	-28,724	26,0	7
22	immunoglobulin heavy chain constant region of tetrameric IgG1a membrane form [Vicugna pacos]	-16,854	44,5	5
22	immunoglobulin heavy chain constant region of tetrameric IgG1a secreted form [Vicugna pacos]	-16,854	36,7	5
22	immunoglobulin heavy chain constant region of homodimeric IgG2b membrane form [Vicugna pacos]	-24,602	35,6	6
22	immunoglobulin heavy chain constant region of homodimeric IgG2b secreted form [Vicugna pacos]	-24,602	27,7	6
22	gi|298573495|gb|ADI87159.1| immunoglobulin G3 heavy chain constant region, partial [Lama glama]	-18,861	23,9	5
22	immunoglobulin heavy chain [Vicugna pacos]	-4,277	18,3	2
23	guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2 isoform 1 [Camelus ferus]	-94,313	37,2	15
23	hypothetical protein CB1_000298004 [Camelus ferus]	-37,749	43,7	6
24	GLCM1_CAMDR RecName: Full=Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1; Short=GlyCAM-1; AltName: Full=Lactophorin; AltName: Full=Proteose-peptone component 3; Short=PP3; AltName: Full=Whey protein; Flags: Precursor	-49,717	17,2	9

24	lactophorin [Camelus dromedarius]	-49,717	17,2	9
24	lactophorin [Camelus dromedarius]	-49,717	15,4	9
25	apolipoprotein E precursor [Camelus ferus]	-68,096	25,6	12
26	cell death activator CIDE-A-like protein [Camelus ferus]	-35,052	41,2	7
27	CASB_CAMDR RecName: Full=Beta-casein; Flags: Precursor	-27,302	26,1	4
27	beta-casein precursor [Camelus dromedarius]	-27,302	26,1	4
27	casein [Camelus dromedarius]	-27,302	26,1	4
27	b-casein, partial [Camelus dromedarius]	-9,204	15,8	2
28	ras-related protein Rab-5C [Camelus ferus]	-44,319	23,4	9
28	sulfite oxidase, mitochondrial [Camelus ferus]	-36,117	95,7	5
28	ras-related protein Rab-5A [Camelus ferus]	-25,752	19,4	3
29	elongation factor 2 [Camelus ferus]	-86,109	96,1	18
30	syntaxin-binding protein 2 [Camelus ferus]	-97,810	69,4	14
31	kappa casein [Camelus dromedarius]	-36,074	20,3	5
31	kappa casein [Camelus bactrianus]	-36,074	20,3	5
31	k-casein, partial [Lama guanicoe]	-12,648	13,7	2
31	CASK_LAMGU RecName: Full=Kappa-casein	-12,648	13,7	2
32	discoidin domain-containing receptor 2 isoform 2 [Camelus ferus]	-98,751	126,6	14
33	syntaxin-3 [Camelus ferus]	-59,397	41,7	11

34	desmoplakin [Camelus ferus]	-33,874	322,2	10
35	guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13 [Camelus ferus]	-36,010	37,9	5
35	guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11 [Camelus ferus]	-28,779	35,3	6
35	guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha [Camelus ferus]	-17,278	37,3	5
36	antigen p97 melanoma associated protein [Camelus ferus]	-86,025	84,0	16
37	hypothetical protein CB1_000256008 [Camelus ferus]	-62,906	22,0	9
38	cell division control protein 42 isoform 1-like protein [Camelus ferus]	-52,532	24,1	9
38	rho-related GTP-binding protein RhoG-like protein [Camelus ferus]	-45,275	26,3	6
39	semaphorin 7A, GPI membrane anchor isoform 1 [Camelus ferus]	-77,119	68,8	15
40	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A [Camelus ferus]	-49,076	21,5	8
40	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A-like protein [Camelus ferus]	-46,674	17,7	7
41	ras-related protein Rab-11A [Camelus ferus]	-42,899	24,3	10
41	ras-related protein Rab-11B [Camelus ferus]	-42,899	24,5	10
41	ras-related protein Rab-25-like protein [Camelus ferus]	-24,396	31,4	6
42	transmembrane BAX inhibitor motif-containing protein 1 [Camelus ferus]	-30,287	33,8	4
43	hypothetical protein CB1_000595044 [Camelus ferus]	-18,580	25,5	5
44	gelsolin isoform 32 [Camelus ferus]	-38,832	77,6	9
45	grac2 GTP-binding protein [Camelus ferus]	-40,661	21,0	7
45	leucine-rich repeat-containing protein 45 [Camelus ferus]	-17,451	138,3	3

46	protein disulfide isomerase-associated 3 precursor-like protein [Camelus ferus]	-41,743	47,1	10
47	peroxiredoxin-1 [Camelus ferus]	-40,633	28,1	8
47	peroxiredoxin-2-like protein [Camelus ferus]	-11,357	21,9	2
48	NADH-cytochrome b5 reductase 3-like isoform 2 [Camelus ferus]	-35,432	41,0	7
49	endoplasmin precursor [Camelus ferus]	-51,751	82,9	13
50	polymeric immunoglobulin receptor precursor [Camelus ferus]	-41,547	109,3	6
51	ras-related protein Ral-A isoform 1 [Camelus ferus]	-41,871	25,5	7
51	ras-related protein Ral-B [Camelus ferus]	-36,960	23,3	7
52	hypothetical protein CB1_000312006 [Camelus ferus]	-35,177	82,6	5
53	ras-related protein Rab-18 [Camelus ferus]	-45,842	16,1	8
54	dehydrogenase/reductase SDR family member 1 [Camelus ferus]	-48,553	33,9	8
55	platelet-activating factor acetylhydrolase 2, cytoplasmic [Camelus ferus]	-40,289	47,6	10
56	heat shock protein HSP 90-alpha [Camelus ferus]	-27,703	76,6	7
56	heat shock cognate protein HSP 90-beta-like isoform 3 [Camelus ferus]	-21,777	75,7	5
57	lipoprotein lipase isoform 3, partial [Camelus ferus]	-42,760	46,5	9
58	NAD(P) dependent steroid dehydrogenase-like isoform 1-like protein [Camelus ferus]	-26,143	40,8	6
59	aldehyde oxidase 3-like protein [Camelus ferus]	-10,393	196,6	3
60	apoptosis-inducing factor 2 [Camelus ferus]	-42,452	39,6	10
61	cytoplasmic aconitate hydratase [Camelus ferus]	-25,272	89,1	9

62	hypothetical protein CB1_000418043 [Camelus ferus]	-19,696	103,6	4
63	immunoglobulin heavy chain constant region of IgM secreted form [Vicugna pacos]	-29,378	48,8	8
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-17,368	24,2	3
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-17,368	24,9	3
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-17,368	24,9	3
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-17,368	24,8	3
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-17,368	24,8	3
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-17,368	24,8	3
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-17,368	24,6	3
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-12,256	24,7	3
64	immunoglobulin lambda light chain precursor, partial [Camelus dromedarius]	-12,256	24,6	3
65	Ras-related protein Rab-27B (C25KG)-like protein [Camelus ferus]	-29,098	32,1	8
66	cytosolic phospholipase A2 epsilon-like protein [Camelus ferus]	-33,998	168,1	9
67	V-type proton ATPase subunit d 1 isoform X2 [Camelus ferus]	-43,204	46,5	7
68	alcohol dehydrogenase [NADP+] isoform 2 [Camelus ferus]	-35,854	42,7	8
69	ADP-ribosylation factor 2 [Camelus ferus]	-20,399	25,1	4
69	hypothetical protein CB1_000762015 [Camelus ferus]	-19,648	55,0	4
69	ADP-ribosylation factor 1-like isoform 1 [Camelus ferus]	-21,140	21,7	4
70	clusterin precursor [Camelus ferus]	-28,438	39,0	4

71	Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF1 [Camelus ferus]	-17,927	24,7	3
72	hypothetical protein CB1_000657009 [Camelus ferus]	-12,954	70,7	5
73	platelet glycoprotein 4 [Camelus ferus]	-30,020	38,3	8
74	synaptobrevin YKT6-like protein [Camelus ferus]	-33,427	27,5	7
75	rho-related GTP-binding protein RhoC-like protein [Camelus ferus]	-27,573	22,0	4
75	hypothetical protein CB1_000427005 [Camelus ferus]	-20,207	22,0	3
76	alpha-soluble NSF attachment protein [Camelus ferus]	-39,324	32,1	7
77	GTPase HRas-like isoform 1 [Camelus ferus]	-24,571	21,1	5
77	cold shock domain-containing protein E1 isoform 3 [Camelus ferus]	-12,765	112,9	3
78	V-set and immunoglobulin domain-containing protein 4 isoform 4 [Camelus ferus]	-12,142	26,3	4
79	receptor-type tyrosine-protein phosphatase F isoform 1, partial [Camelus ferus]	-32,088	278,7	7
80	rho-related GTP-binding protein RhoU-like protein [Camelus ferus]	-27,731	20,2	4
81	hypothetical protein CB1_000418042 [Camelus ferus]	-24,578	68,3	6
82	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4- galactosyltransferase 1, membrane-bound form-like protein [Camelus ferus]	-16,672	37,3	4
83	Toll-like receptor 2 [Camelus dromedarius]	-29,293	69,1	7
84	lactalbumin [Lama guanicoe]	-12,499	10,4	3
84	LALBA_CAMDR RecName: Full=Alpha-lactalbumin; AltName: Full=Lactose synthase B protein	-8,844	14,3	3
84	alpha-lactalbumin precursor [Camelus ferus]	-8,844	16,4	3

85	hypothetical protein CB1_001041007 [Camelus ferus]	-24,564	240,6	6
86	ras-related protein Rab-2B isoform 2 [Camelus ferus]	-21,892	21,7	4
87	isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic [Camelus ferus]	-27,440	75,9	6
88	plexin B2 [Camelus ferus]	-18,297	263,7	6
89	14-3-3 protein epsilon-like protein [Camelus ferus]	-20,516	28,3	4
90	EH domain-containing protein 1 [Camelus ferus]	-24,502	73,6	5
91	lactoperoxidase isoform 1 preproprotein [Camelus ferus]	-19,909	87,7	5
91	peroxidase [Camelus dromedarius]	-18,238	80,5	5
92	hypothetical protein CB1_000465062 [Camelus ferus]	-27,454	32,7	5
93	moesin [Camelus ferus]	-19,289	67,4	4
94	hypothetical protein CB1_000201015 [Camelus ferus]	-17,858	83,4	5
95	casein [Camelus dromedarius]	-28,687	22,9	4
95	CASA2_CAMDR RecName: Full=Alpha-S2-casein; Flags: Precursor	-28,687	22,9	4
96	potassium/sodium hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 2 [Camelus ferus]	-26,908	94,4	4
97	type I iodothyronine deiodinase [Camelus ferus]	-21,714	23,3	5
98	hypothetical protein CB1_002280002, partial [Camelus ferus]	-12,034	16,6	4
99	protein ERGIC-53 [Camelus ferus]	-10,796	54,2	3
100	3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 7 [Camelus ferus]	-24,126	40,9	5
101	synaptotagmin-like protein [Camelus ferus]	-20,240	77,7	5

102	hypothetical protein CB1_000427009 [Camelus ferus]	-19,403	40,0	4
103	neutral alpha-glucosidase AB isoform 1 [Camelus ferus]	-25,586	103,9	5
104	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial precursor [Camelus ferus]	-6,655	63,0	2
105	ras-related protein R-Ras [Camelus ferus]	-30,773	19,0	5
106	dnaJ subfamily A member 2-like protein [Camelus ferus]	-11,064	45,1	4
107	plasminogen [Camelus ferus]	-14,112	73,0	4
108	sodium/glucose cotransporter 1 [Camelus ferus]	-15,788	78,3	4
109	fructose-bisphosphate aldolase A isoform 4 [Camelus ferus]	-14,441	40,0	3
110	RAB3 GTPase activating protein subunit 2 (non-catalytic) [Camelus ferus]	-14,385	105,0	4
111	ATP-dependent RNA helicase DQX1 [Camelus ferus]	-13,996	75,0	3
112	DnaJ (Hsp40), subfamily C, member 3-like protein [Camelus ferus]	-11,976	46,5	4
113	1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase ABHD5 [Camelus ferus]	-14,736	32,2	4
114	hypothetical protein CB1_000925002 [Camelus ferus]	-18,277	83,2	3
115	apolipoprotein A-I [Camelus ferus]	-9,530	22,5	4
116	acetyl-coenzyme A synthetase, cytoplasmic [Camelus ferus]	-11,943	74,6	4
117	dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1 isoform 3 [Camelus ferus]	-21,597	69,8	4
118	metalloreductase STEAP4 [Camelus ferus]	-25,055	52,9	4
119	5-nucleotidase isoform 2 [Camelus ferus]	-21,006	58,0	4
120	peroxiredoxin-6 [Camelus ferus]	-18,383	21,9	4

121	long-chain-fatty-acid--CoA ligase 5 isoform 3 [Camelus ferus]	-11,796	69,4	3
121	long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1 isoform 5 [Camelus ferus]	-10,810	70,4	2
122	cofilin-1 [Camelus ferus]	-18,026	19,6	4
123	MOB kinase activator 3A [Camelus ferus]	-7,210	19,8	3
124	hypothetical protein CB1_001185002 [Camelus ferus]	-9,027	66,3	3
125	Mob4B protein-like protein [Camelus ferus]	-10,696	35,7	2
126	vesicle-associated membrane protein 8 [Camelus ferus]	-19,743	11,3	3
127	ras-related protein Rab-13-like protein [Camelus ferus]	-11,790	44,1	2
128	14-3-3 protein beta/alpha [Camelus ferus]	-14,383	17,0	3
129	fibrinogen beta chain precursor [Camelus ferus]	-6,454	55,3	3
130	vitamin D-binding protein-like protein [Camelus ferus]	-7,489	49,3	3
131	protein tyrosine phosphatase type IVA 2-like isoform 1 [Camelus ferus]	-14,916	19,0	3
132	transketolase [Camelus ferus]	-8,544	97,8	3
133	hypothetical protein CB1_000995013 [Camelus ferus]	-16,636	58,9	3
134	Phosphatidylinositol transfer protein beta isoform-like protein [Camelus ferus]	-13,045	35,8	2
135	rho GDP-dissociation inhibitor 1-like isoform 2, partial [Camelus ferus]	-23,148	16,7	3
136	translocon-associated protein subunit delta-like protein [Camelus ferus]	-15,507	19,7	3
137	chloride intracellular channel protein 1 [Camelus ferus]	-13,047	23,5	3
138	cleft lip and palate transmembrane protein 1 isoform 1 [Camelus ferus]	-11,209	123,2	3

139	hypothetical protein CB1_000914024 [Camelus ferus]	-10,387	183,5	2
140	phosphoglycerate kinase 1 [Camelus ferus]	-20,731	43,6	3
141	ADP-ribosylation factor 6 [Camelus ferus]	-6,516	20,0	3
142	peptidoglycan recognition protein [Camelus dromedarius]	-16,447	21,3	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein With Disaccharide At 3.2a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein With Disaccharide At 3.2a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein With Disaccharide At 3.2a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein With Disaccharide At 3.2a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 2.8a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 2.8a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 2.8a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 2.8a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2

142	Chain D, Crystal Structure Of Cameline Peptidoglycan Recognition Protein At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein At 1.8a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein At 1.8a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein At 1.8a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein At 1.8a Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Methyloxane-2,3,4,5-Tetrol At 2.9 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Methyloxane-2,3,4,5-Tetrol At 2.9 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Methyloxane-2,3,4,5-Tetrol At 2.9 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Methyloxane-2,3,4,5-Tetrol At 2.9 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	gi|178847621|pdb|3COR|A Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With N-Acetylgalactosamine At 3.1 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With N-Acetylgalactosamine At 3.1 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With N-Acetylgalactosamine At 3.1 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With N-Acetylgalactosamine At 3.1 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	peptidoglycan recognition protein [Camelus dromedarius]	-16,447	21,3	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein	-16,447	18,9	2

	With Alpha-D-Glucopyranosyl Alpha-D- Glucopyranoside At 3.4 A Resolution			
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Alpha-D-Glucopyranosyl Alpha-D- Glucopyranoside At 3.4 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Alpha-D-Glucopyranosyl Alpha-D- Glucopyranoside At 3.4 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Alpha-D-Glucopyranosyl Alpha-D- Glucopyranoside At 3.4 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Ternary Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Maltose And N-Acetylglucosamine At 1.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Ternary Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Maltose And N-Acetylglucosamine At 1.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Ternary Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Maltose And N-Acetylglucosamine At 1.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Ternary Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Maltose And N-Acetylglucosamine At 1.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (pgrp-s) With N-acetyl Glucosamine(nag) At 2.6 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (pgrp-s) With N-acetyl Glucosamine(nag) At 2.6 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (pgrp-s) With N-acetyl Glucosamine(nag) At 2.6 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (pgrp-s) With N-acetyl Glucosamine(nag) At 2.6 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Alpha-Rhamnose At 2.9 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Alpha-Rhamnose At 2.9 A Resolution	-16,447	18,9	2

142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Alpha-Rhamnose At 2.9 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Alpha-Rhamnose At 2.9 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With The Pgn Fragment At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With The Pgn Fragment At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With The Pgn Fragment At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With The Pgn Fragment At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) And Lipoteichoic Acid At 2.1 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) And Lipoteichoic Acid At 2.1 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) And Lipoteichoic Acid At 2.1 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) And Lipoteichoic Acid At 2.1 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Heparin-Dissacharide At 2.8 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Heparin-Dissacharide At 2.8 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Heparin-Dissacharide At 2.8 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Heparin-Dissacharide At 2.8 A Resolution	-16,447	18,9	2

142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With N- Acetyl Muramic Acid At 2.6 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With N- Acetyl Muramic Acid At 2.6 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With N- Acetyl Muramic Acid At 2.6 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With N- Acetyl Muramic Acid At 2.6 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-S With A Trapped Diethylene Glycol In The Ligand Diffusion Channel At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-S With A Trapped Diethylene Glycol In The Ligand Diffusion Channel At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-S With A Trapped Diethylene Glycol In The Ligand Diffusion Channel At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-S With A Trapped Diethylene Glycol In The Ligand Diffusion Channel At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With A Bound N-Acetylglucosamine In The Diffusion Channel At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With A Bound N-Acetylglucosamine In The Diffusion Channel At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With A Bound N-Acetylglucosamine In The Diffusion Channel At 2.5 A	-16,447	18,9	2

	Resolution			
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With A Bound N-Acetylglucosamine In The Diffusion Channel At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Dipeptide L-Ala D-Glu At 2.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Dipeptide L-Ala D-Glu At 2.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Dipeptide L-Ala D-Glu At 2.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein (Pgrp-S) With Dipeptide L-Ala D-Glu At 2.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Structural Basis Of Recognition Of Pathogen-Associated Molecular Patterns And Inhibition Of Proinflammatory Cytokines By Camel Peptidoglycan Recognition Protein	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Structural Basis Of Recognition Of Pathogen-Associated Molecular Patterns And Inhibition Of Proinflammatory Cytokines By Camel Peptidoglycan Recognition Protein	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Structural Basis Of Recognition Of Pathogen-Associated Molecular Patterns And Inhibition Of Proinflammatory Cytokines By Camel Peptidoglycan Recognition Protein	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Structural Basis Of Recognition Of Pathogen-Associated Molecular Patterns And Inhibition Of Proinflammatory Cytokines By Camel Peptidoglycan Recognition Protein	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein-Short (cpgrp-s) With Mycolic Acid At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein-	-16,447	18,9	2

	Short (cpgrp-s) With Mycolic Acid At 2.5 A Resolution			
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein-Short (cpgrp-s) With Mycolic Acid At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein-Short (cpgrp-s) With Mycolic Acid At 2.5 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein(Cpgrp-S) With A Mycobacterium Metabolite Shikimate At 2.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein(Cpgrp-S) With A Mycobacterium Metabolite Shikimate At 2.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein(Cpgrp-S) With A Mycobacterium Metabolite Shikimate At 2.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Camel Peptidoglycan Recognition Protein(Cpgrp-S) With A Mycobacterium Metabolite Shikimate At 2.7 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Cellular Metabolite Chorismate At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Cellular Metabolite Chorismate At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Cellular Metabolite Chorismate At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Peptidoglycan Recognition Protein With Cellular Metabolite Chorismate At 3.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of Pgrp-S Complexed With Chorismate At 2.15 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of Pgrp-S Complexed With Chorismate At 2.15 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of Pgrp-S Complexed With Chorismate At 2.15 A Resolution	-16,447	18,9	2

142	Chain D, Crystal Structure Of Pgrp-S Complexed With Chorismate At 2.15 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of Pgrp-s Complexed With Myristic Acid At 2.28 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of Pgrp-s Complexed With Myristic Acid At 2.28 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of Pgrp-s Complexed With Myristic Acid At 2.28 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of Pgrp-s Complexed With Myristic Acid At 2.28 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-16,447	18,9	2

142	Chain C, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Structural Studies On The Molecular Interactions Between Camel Peptidoglycan Recognition Protein, Cpgrp-S And Peptidoglycan Moieties, N-Acetylglucosamine And N-Acetylmuramic Acid	-16,447	18,9	2
142	PGRP1_CAMDR RecName: Full=Peptidoglycan recognition protein 1; AltName: Full=Peptidoglycan recognition protein short; Short=PGRP-S; Flags: Precursor	-16,447	21,3	2
142	Chain A, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein-s Complexed With Butyric Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein-s Complexed With Butyric Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein-s Complexed With Butyric Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of Peptidoglycan Recognition Protein-s Complexed With Butyric Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Pgrp-s With Lauric Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Pgrp-s With Lauric Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Pgrp-s With Lauric Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Pgrp-s With Lauric Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Crystal Structure Of The Complex Of Cpgrp-s With Stearic Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Crystal Structure Of The Complex Of Cpgrp-s With Stearic Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2

142	Chain C, Crystal Structure Of The Complex Of Cpgrp-s With Stearic Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Crystal Structure Of The Complex Of Cpgrp-s With Stearic Acid At 2.2 A Resolution	-16,447	18,9	2
142	Chain A, Structural Insights Into The Dual Strategy Of Recognition Of Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-s: Ternary Complex Of Pgrp-s With Lps And Fatty Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain B, Structural Insights Into The Dual Strategy Of Recognition Of Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-s: Ternary Complex Of Pgrp-s With Lps And Fatty Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain C, Structural Insights Into The Dual Strategy Of Recognition Of Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-s: Ternary Complex Of Pgrp-s With Lps And Fatty Acid	-16,447	18,9	2
142	Chain D, Structural Insights Into The Dual Strategy Of Recognition Of Peptidoglycan Recognition Protein, Pgrp-s: Ternary Complex Of Pgrp-s With Lps And Fatty Acid	-16,447	18,9	2
142	HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus	-16,447	21,0	2
143	BOVIN SLC11A2 protein OS=Bos taurus	-13,990	38,8	3
144	BOVIN Heat shock 70kD protein binding protein OS=Bos taurus	-6,367	103,3	2
145	BOVIN Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 OS=Bos taurus	-6,478	362,1	3
146	BOVIN FAR1 protein OS=Bos taurus	-8,506	54,3	3
147	BOVIN Rho GDP-dissociation inhibitor 1 OS=Bos taurus	-16,935	33,9	3
148	E2QUR8_CANFA Uncharacterized protein OS=Canis familiaris	-14,925	27,4	3
149	BOVIN Stress-induced-phosphoprotein 1 OS=Bos	-5,781	53,8	2
150	BOVIN Synaptobrevin homolog YKT6 OS=Bos taurus 1	-5,866	25,0	2
151	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-4,824	37,5	2

152	BOVIN 40S ribosomal protein S8 OS=Bos taurus	-5,851	24,3	2
153	Camel3_plate-015_N11.ab1|Frame1|Orf	-3,076	38,5	2
154	BOVIN Proteasome (Prosome, macropain) 26S subunit, ATPase, 1 OS=Bos taurus	-7,134	84,6	2
155	CANFA Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis familiaris	-6,377	110,5	2
156	CL656Contig1|Frame2|Orf	-11,455	24,5	2
157	BOVIN 40S ribosomal protein S26 OS=Bos taurus	-9,029	11,1	2
158	BOVIN Uncharacterized protein OS=Bos taurus	-3,412	35,6	2
159	RAT ATPase, Class I, type 8B, member 1 (Predicted) OS=Rattus norvegicus	-6,384	104,0	2
160	BOVIN GCK protein OS=Bos taurus	-9,466	17,2	2
161	CALJA Uncharacterized protein OS=Callithrix jacchus	-6,728	16,6	2
162	CL2104Contig1|Frame1	-9,717	45,0	2
163	CL661Contig1|Frame3	-4,015	156,0	2
164	BOVIN Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B OS=Bos taurus	-8,304	32,1	2
165	BOVIN PDIA6 protein (Fragment) OS=Bos taurus	-17,222	108,3	2
166	CL1153Contig1|Frame3|Orf	-5,740	91,2	2
167	BOVIN Elongation factor 1-beta OS=Bos taurus 3	-19,772	8,5	2
168	BOVIN Arginyl-tRNA synthetase, cytoplasmic OS=Bos taurus	-16,745	35,3	2
169	MOUSE Alanyl-tRNA synthetase, cytoplasmic OS=Mus musculus	-5,213	25,1	2
170	CANFA Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis familiaris	-14,054	31,4	2

171	BOVIN Glycerol kinase OS=Bos taurus	-10,260	90,9	2
172	BOVIN Proteasome activator complex subunit 1 OS=Bos taurus	-10,796	78,6	2
173	PIG Uncharacterized protein OS=Sus scrofa	-4,101	39,8	2
174	BOVIN Transmembrane emp24 domain-containing protein 10 OS=Bos taurus	-8,459	100,3	2
175	Camel2_plate-007_A05.ab1|Frame2|Orf	-5,809	36,7	2
176	CL1699Contig1|Frame1	-8,138	70,4	2
177	BOVIN DEAD box polypeptide 3 Y-linked long isoform OS=Bos taurus	-9,138	50,5	2
178	CL423Contig1|Frame1|Orf	-13,034	94,9	2
179	BOVIN Eukaryotic translation elongation factor 1 epsilon 1 OS=Bos taurus	-12,534	35,3	2
180	MOUSE Lims E protein OS=Mus musculus	-5,036	38,3	2
181	MYOLU Uncharacterized protein OS=Myotis lucifugus	-11,034	196,3	2
182	MYOLU Uncharacterized protein OS=Myotis lucifugus	-6,986	109,4	2
183	HORSE Uncharacterized protein (Fragment) OS=Equus caballus	-10,795	29,0	2
184	CL2946Contig1|Frame2	-4,456	17,1	2
185	RAT Seryl-tRNA synthetase, cytoplasmic OS=Rattus norvegicus	-6,066	61,2	2
186	CL830Contig1|Frame2|Orf	-9,341	60,0	2
187	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3 (Fragment) OS=Cricetulus griseus	-8,767	120,1	2

Publications