

Université Pierre et Marie Curie

Ecole Doctorale Physiologie Physiopathologie

ED 394

Service de Biologie de la Reproduction du Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière

Etude du profil protéomique de follicules ovariens de souris à 3 différents stades de développement *in vitro*

Par Amandine Anastácio

Thèse de doctorat de Biologie de la Reproduction

Dirigée par Catherine Poirot

Présentée et soutenue publiquement le 11 Mars 2014

Devant un jury composé de :

Mme CHRISTIN- MAITRE Sophie	PU-PH, Université Paris VI	Présidente
Mme LEFEVRE Brigitte	Directeur de Recherche, INRA	Rapporteur
Mr BEAUDEUX Jean-Louis	PU-PH, Paris Descartes	Rapporteur
Mme REYNAUD Karine	Chargé de Recherche, INRA	Examineur
Mr BRUNET Stéphane	Chargé de Recherche INSERM	Examineur
Mme ALMEIDA SANTOS Teresa	Professeur, MD, PhD, Université de Coimbra, Portugal	Co-directrice
Mme POIROT Catherine	PU-PH, Université Paris VI	Co-directrice

Ce travail de thèse a été financé avec la bourse de doctorat SFRH / BD / 65299 / 2009 attribuée par la Fundação para a Ciência e Tecnologia.

Remerciements

Pendant cette expérience personnelle et scientifique qu'a été pour moi la réalisation de ce travail de thèse j'ai eu le plaisir de croiser, de partager et vivre avec des personnes qui appartiendront à tout jamais à l'histoire de ma vie. Pour vous, j'écris ces quelques mots qui sont insuffisants pour vous dire combien vous êtes et aviez été importants pendant mon parcours et mon évolution.

Un grand merci au Professeur Catherine Poirot, qui a accepté d'accueillir cette étrangère dans son équipe il y a plus de sept ans. Pour avoir cru en moi à chaque projet réalisé ensemble, pour m'avoir fait découvrir et m'avoir fait tomber amoureuse de ce domaine qui est le sien et pour m'avoir toujours encouragée à continuer et à croire quand moi je croyais le moins. Non ce ne sera pas encore le prix Nobel mais qui sait un jour....

Au professeur Teresa Almeida dos Santos qui sans me connaître a accepté de rejoindre ce projet et a toujours eu des mots encourageants dans nos échanges.

A Cédric et Solenne qui m'ont présenté un nouveau et immense monde qui est celui de la protéine et m'ont accueilli si bien dans la plateforme. Pour avoir permis que pendant presque un an je monopolise leur nano HPLC, pour leur patience pour me former, m'épauler, m'encourager et pour avoir toujours eu le temps de partager avec moi leurs connaissances et avoir montré autant d'enthousiasme pour ce projet.

A Mr Federici qui m'a sauvée à un moment où je me noyais dans mes tableaux de protéines.

A vous tous qui pendant toutes ces années ont appartenu à la famille du laboratoire de Biologie de la Reproduction de la Pitié Salpêtrière.

A Marie pour ton amitié, ta présence, ton soutien, tes mots. Grâce à toi la distance de chez moi a été un peu moins dure à vivre.

A mes amis qui me font toujours sentir que je ne suis jamais partie d'auprès d'eux même si parfois des mois, ou même des années se passent sans que l'on ne se voit.

A Renato qui loin a fait partie de cette aventure quotidiennement, qui a du supporter mes doutes, plaintes et qui m'a tant aidée sans qui je comprendrais encore moins de tout ça.

A mes parents, frère, sœurs et à Jacinto sans qui je ne serais jamais arrivée là, à leur regard de fierté à chaque étape que j'accomplissais et à tout l'amour et le soutien qu'ils me donnent. La distance a été parfois difficilement surmontée mais maintenant J'ARRIVE...

A ma sœur et mère de cœur qui m'ont accueillie dans leur famille pendant toutes ces années d'aventure en France. Merci pour votre patience, votre amour et de ne jamais m'avoir fait sentir que j'étais une pièce ajoutée à la famille qui est la votre.

A vous tous qui m'avez accompagnée dans cette étape de ma vie, j'espère vous avoir toujours près de moi, pour vous un

GRAND MERCI

Sommaire

Remerciements	3
Sommaire	5
Liste des abréviations.....	9
I. Introduction.....	10
A. Ovogenèse et Folliculogenèse.....	11
1. L'ovaire : rappel anatomique et histologique	13
2. Réserve ovarienne	15
3. Ovogenèse.....	17
3. 1. Phase de multiplication.....	18
3. 2. Croissance ovocytaire.....	19
3. 2. 1. Aspects morphologiques	19
3. 2. 2. Aspects moléculaires.....	20
3. 3. Maturation ovocytaire	21
3. 3. 1. La reprise de la méiose.....	21
3. 3. 2. Maturation cytoplasmique	22
4. Folliculogenèse	24
4. 1. Stades folliculaires: aspects morphologiques.....	24
4. 2. Stades folliculaires : aspects moléculaires.....	26
4. 2. 1. Formation des follicules primordiaux.....	26
4. 2. 2. Activation des follicules primordiaux	27
4. 2. 3. Follicule primaire	29
4. 2. 4. Follicule secondaire et préantral	29
4. 2. 5. Follicule antral.....	30
4. 3. Cycle menstruel.....	31
4. 3. 1. Le contrôle hormonal du cycle menstruel	32
4. 4. Dynamique de la croissance folliculaire.....	33
B. Croissance Folliculaire <i>in vitro</i>.....	35
1. Types de cultures	36

1. 1. Culture <i>in situ</i>	37
1. 2. Culture de follicules isolés.....	37
1. 2. 1. Isolement des follicules	38
2. La souris comme modèle	39
2. 1. Culture de follicules isolés.....	40
2. 1. 1. Culture en phase liquide ou 2D	40
2. 1. 2. Culture organotypique ou 3D.....	41
3. Chez l'humain	44
3. 1. Différentes approches de culture	44
C. La protéomique.....	48
1. Les grandes étapes d'une analyse protéomique	49
1. 1. Extraction	50
1. 2. Préfractionnement.....	51
1. 2. 1. Electrophorèse 1D.....	52
1. 2. 2. Électrofocalisation.....	53
1. 3. Séparation.....	54
1. 3. 1. Electrophorèse bidimensionnelle (électrophorèse 2D)	54
1. 3. 2. Chromatographie liquide.....	55
1. 4. Identification des protéines par spectrométrie de masse	55
1. 5. Analyse bioinformatique.....	58
2. La protéomique appliquée à la biologie de la reproduction	59
2. 1. L'étude protéomique dans la reproduction féminine	59
2. 2. L'étude de l'ovocyte – approche protéomique.....	61
II. Objectifs de la Thèse.....	65
III. Matériels et méthodes	67
A. Culture de follicules ovariens de souris	68
1. Animaux.....	68
2. Prélèvement des ovaires et isolement des follicules	68
3. Culture folliculaire	69
4. Maturation ovocytaire	69
5. Stades folliculaires étudiés	70
5. 1. Stade initial (IS)	70
5. 2. Rupture complète de la membrane de Slavjanski (RMS)	71
5. 3. Follicules avec une cavité antrum like (FA)	71

6. Choix d'étudier le follicule entier.....	72
6. 1. Séparation des différents types cellulaires	72
7. Comparaison des milieux de culture.....	72
7. 1. Courbes de croissance	74
7. 2. Critères morphologiques et taux de maturation	74
8. Sélection des follicules pour l'analyse protéomique.....	76
B. Analyse protéomique.....	77
1. Extraction des protéines.....	77
2. Préfractionnement des extraits protéiques.....	77
2. 1. Fractionnement IEF OffGel	78
2. 2. Fractionnement IEF in gel.....	81
3. Digestion tryptique.....	83
4. Identification des protéines par spectrométrie de masse	84
4. 1. Dessalage des mélanges de peptides issus de la digestion	84
4. 2. Analyse LC-MS/MS.....	84
4. 2. 1. Séparation des peptides par 1DLC.....	84
4. 2. 2 Séparation des peptides par 2DLC.....	84
4. 2. 3. Analyse des peptides en MS/MS avec une trappe ionique	85
5. Identification des protéines	85
6. Analyse des profils protéiques	86
6. 1. Analyse Gene Ontology (GO) via PANTHER	86
6. 2. Quantification label-free.....	86
6. 3. Ingenuity Pathway Analysis (IPA)	88
6. 3. Pathway Studio	88
IV. Résultats.....	89
A. Acquisition des profils protéiques	90
1. Composition des groupes étudiés.....	90
2. Préfractionnement IEF in gel	91
3. Identification des protéines présentes dans les différents stades de développement	91
B. Analyses des profils protéiques	94
1. Analyse Gene Ontology avec Panther	94
1. 1. Classes de protéines.....	94
1. 2. Processus biologiques	95
2. Réseaux d'interactions	96

3. Analyse quantitative des protéines dans les trois stades de développement	100
V. Discussion, Conclusion et Perspectives	103
Discussion.....	104
Construction des profils protéiques	105
Analyse des profils protéiques	106
Implications des protéines du cycle cellulaire	108
L'apoptose, ROS et réparation de l'ADN	109
Protéines différemment abondantes entre les stades.....	110
Surexpression de protéines associées au calcium	111
Protéines associées à la glycolyse et au métabolisme des glucides	111
Régulation de la PKA.....	112
Conclusions et perspectives	113
VI. Bibliographie.....	115
VII. Annexes	136
VIII. Communications	192
IX. Liste des figures.....	223
X. Liste des Tableaux.....	229
Résumé	232
Abstract.....	233

Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique
ACN	acétonitrile
AF	acide formique
ARNm	acide ribonucléique messager
CCO	complexe cumulus-ovocytaire
CG	cellules de la granulosa
CGP	cellules germinales primordiales
CHAPS	3-(3-Cholamidopropyl)diméthylammonio-1-propanesulfonate
DTT	dithiothréitol
EGF	epidermal growth factor
ET	extrait total
FA	follicules antraux
FSH	hormone folliculo stimulante
FIV	Fécondation <i>in vitro</i>
GP	globule polaire
GVBD	rupture de la vésicule germinative
hCG	hormone chorionique gonadotrope
HPLC	high performance liquid chromatography
IEF	Isoelectric focalisation
IPG	immobilized pH gradient
IS	stade initial
LH	hormone lutéinisante
MII	ovocyte au stade de métaphase II
MPF	M-phase promoting factor
MS	spectrométrie de masse
LC-MS/MS	chromatographie liquide avec spectrométrie de masse en tandem
OMI	oocyte meiotic inhibitor
RMS	rupture de la membrane de Slavjanski
SDS	sodium dodecyl sulfate
SDS PAGE	sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis
SVF	sérum de veau foétale
TFA	acide trifluoroacétique
VG	vésicule germinative
ZP	zone pellucide

I. Introduction

A. Ovogenèse et Folliculogenèse

L'ovocyte mature est la cellule la plus rare de l'organisme et aussi une des plus remarquables car l'ovocyte est à la fois totipotent et très spécialisé. Entre autres, il porte la moitié du capital génétique maternel, il doit mettre en place le mécanisme de blocage à une fécondation polyspermiqque, assumer d'importantes transformations au niveau du noyau et commander les premières étapes du développement embryonnaire.

Le gamète féminin possède également la particularité d'avoir une méiose qui se déroule par étapes espacées par des pauses qui peuvent durer des années. Son développement est de cette façon axé sur la capacité à reprendre et à aboutir sa méiose et à assurer le développement initial de l'embryon.

Cependant l'ovocyte n'évolue pas isolément, il forme avec les cellules somatiques qui l'entourent un complexe fonctionnel dénommé **follicule**.

Le développement de l'ovocyte est ainsi complètement dépendant d'interactions dans ce complexe fonctionnel car si l'ovocyte contrôle la prolifération des cellules de la granulosa (CG) et leur différenciation (Vanderhyden et al. 1992), les CG sont à leur tour indispensables à la croissance, différenciation, méiose, maturation cytoplasmique et contrôle de l'activité transcritomique dans l'ovocyte (van den Hurk et al. 2005).

Ainsi quand on parle de développement de l'ovocyte - **l'ovogenèse**, il est indiscutablement lié au développement du follicule - **folliculogenèse**, même si dans chacun il y a des étapes caractéristiques qui leurs sont propres.

Du fait que l'ovocyte soit une cellule si particulière, les études pour essayer de connaître et comprendre les différentes étapes de son développement sont nombreuses depuis longtemps. Néanmoins beaucoup reste à apprendre et comprendre sur le développement ovocytaire, folliculaire et leurs interactions.

Mieux connaître la folliculogenèse et en particulier la folliculogenèse *in vitro* pourrait permettre d'améliorer les techniques de procréation médicalement assisté (PMA) avec par exemple l'utilisation du cortex ovarien congelé pour la préservation de la fertilité et pour lesquels la greffe d'ovaire n'est pas envisageable par risque de réintroduction de la maladie. La cryopreservation du cortex ovarien ce fait à ce jour essentiellement dans le

cadre d'un traitement anti cancéreux potentiellement très stérilisant et est la seule technique qui peut être proposé aux filles prépubères (Aubard et al. 2001, Poirot et al. 2005, Poirot et al. 2007).

Même si le but ultime est de comprendre la folliculogénèse chez la femme ce sont couramment les recherches sur le modèle animal qui permettent d'obtenir de nouvelles données qui doivent être confirmées ultérieurement chez la femme.

Malgré les différences physiologiques, les chercheurs utilisent souvent la souris comme modèle expérimental. Les avantages de ce modèle reposent essentiellement dans le court cycle de vie, un temps de gestation de 19 à 20 jours avec une importante natalité ce qui permet des expériences avec des résultats satisfaisants dans un délai assez court, un élevage facile et peu coûteux. Ceci est d'autant plus vrai pour le développement folliculaire *in vitro*, puisque c'est la seule espèce pour laquelle des souriceaux sont nés après croissance folliculaire *in vitro*.

1. L'ovaire : rappel anatomique et histologique

L'ovaire est la gonade féminine et chez les vertébrés il est normalement présent au nombre de deux. Les ovaires se situent dans la cavité pelvienne, un de chaque côté de l'utérus auquel ils sont reliés par un ligament fibreux – **ligament propre de l'ovaire** et sont situés en regard du pavillon des trompes de Fallope.

Chez la femme adulte ils sont ovoïdes et mesurent environ 4 cm de long, 2 cm de large et 1 cm d'épaisseur.

Histologiquement on observe 4 zones distinctes dans l'ovaire (Fig. 1) :

- **Épithélium germinatif** qui est un épithélium cubique simple, qui recouvre l'ovaire.
- **Albuginée ovarienne**, une capsule de tissu conjonctive dense et pauvre en cellules, située immédiatement sous l'épithélium germinatif et en périphérie du cortex ovarien.
- **Cortex ovarien**, qui occupe la périphérie de l'ovaire et qui est la zone fonctionnelle de l'ovaire. Il est composé par les follicules aux différents stades du développement, un stroma conjonctif de soutien et quelques vaisseaux sanguins.
- **Médullaire**, zone parenchymateuse constituée essentiellement par du tissu conjonctif lâche et un grand réseau de vaisseaux sanguins et lymphatiques situé dans la partie la plus interne de l'ovaire.

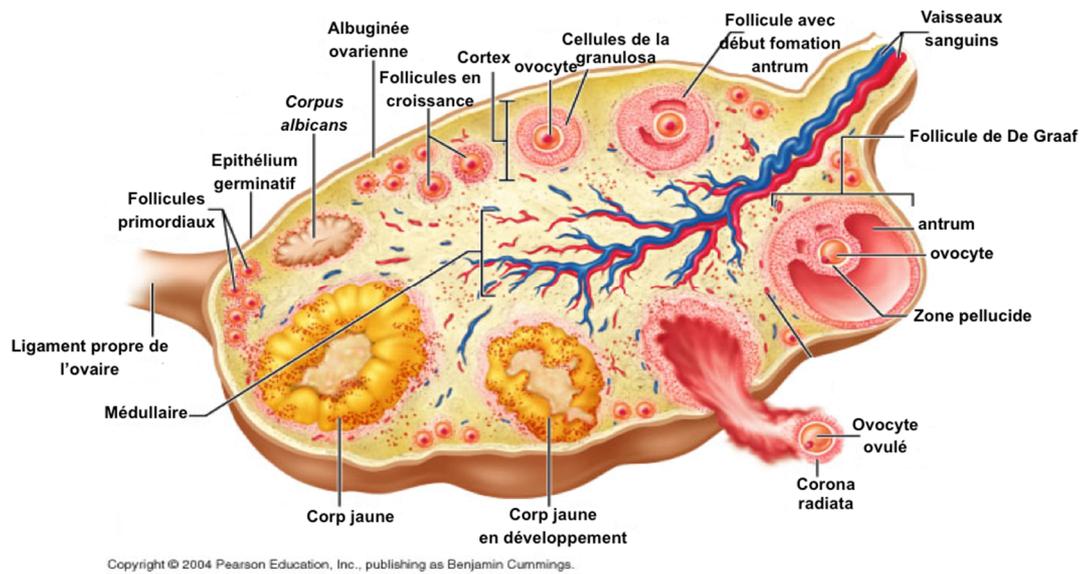


Figure 1 : Représentation schématique de l'organisation interne de l'ovaire ainsi que des follicules aux différents stades de leur développement (adaptée de <http://apbrwww5.apsu.edu>).

Cet organe possède comme unité fonctionnelle le **follicule ovarien** qui renferme l'**ovocyte** et assure son développement en gamète féminin : l'**ovocyte mature**. De la puberté à la ménopause l'ovaire assume une double fonction :

- **Exocrine** ou fonction gamétogène, qui permet la croissance et maturation du follicule ovarien avec l'expulsion d'un ovocyte mature
- **Endocrine** avec la production d'hormones stéroïdes comme l'œstradiol et la progestérone, qui sont nécessaires à la survenue des caractères sexuels secondaires et qui régulent le cycle menstruel.

2. Réserve ovarienne

Chez l'humain la réserve ovarienne est composée par des follicules primordiaux, qui contiennent un ovocyte I, bloqué en fin de prophase de la première division de la méiose, et commence à se former vers le quatrième mois de vie intra-utérine.

Au septième mois de la vie utérine environ 7 millions de cellules germinales primordiales (**CGP**) sont formées. Cependant lors de la formation des follicules primordiaux certaines CGP ne sont pas entourés par les cellules somatiques et dégèrent par apoptose et ce nombre n'est plus que de 1 ou 2 millions à la naissance (Pepling et al. 2001).

Les ovocytes restent apparemment quiescents jusqu'à la puberté, mais on observe néanmoins une déplétion du stock ovarien, qui est estimé à 400 000 follicules par ovaire au moment de la survenue de la puberté.

A partir de ce moment la réserve ovarienne diminue graduellement jusqu'à 37/38 ans, l'âge auquel s'installe une perte plus rapide des follicules menant à l'épuisement de la réserve ovarienne et à la survenue de la ménopause quelques années plus tard (Baker 1963).

Ainsi pendant sa période d'activité génitale la femme ne mature et n'ovule que 400 ovocytes environ.

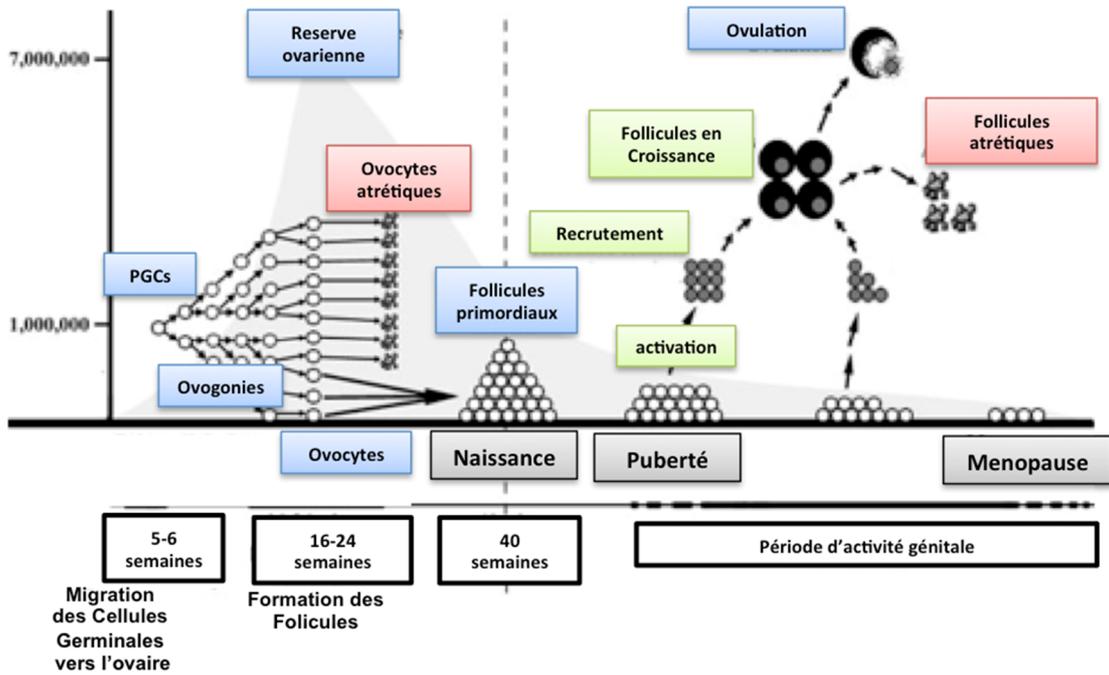


Figure 2 : Diagramme de la réserve ovarienne et devenir des follicules au long de la vie de la femme (adapté de Kaipia et al. 1997).

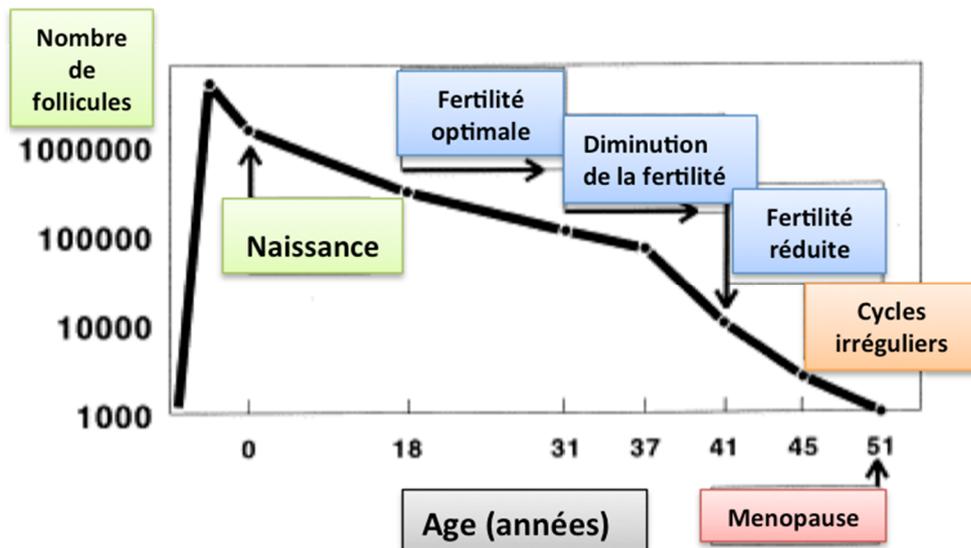


Figure 3 : Courbe descriptive de l'évolution du nombre de follicules constituant la réserve ovarienne avec l'âge (adapté de te Velde et al. 1998).

3. Ovogenèse

L'ovogenèse est l'ensemble des processus qui commencent pendant le développement embryonnaire avec la formation des ovogonies et leur différenciation en **ovocyte I** (ovocyte primaire ou immature) et ceux qui permettent le développement de l'ovocyte I jusqu'au stade métaphase II (MII) : **ovocyte mature**. L'ovocyte mature se caractérise par sa capacité à être fécondé et à assumer les premières étapes du développement embryonnaire.

Elle se déroule en trois phases et est caractérisée par deux blocages de la division méiotique, un premier blocage en fin de prophase I et un deuxième blocage en métaphase de la deuxième division (Fig. 4). Les trois phases sont :

- **Multiplication** concerne les ovogonies, cellules diploïdes qui se multiplient par mitoses et qui en débutant la méiose, aboutissent à la production des ovocytes I.
- **Croissance ovocytaire** correspond aux changements morphologiques et moléculaires accompagnant la croissance de l'ovocyte I jusqu'au moment de la maturation terminale.
- **Maturation ovocytaire** correspond aux changements nucléaires et cytoplasmiques qui permettent à l'ovocyte de reprendre sa méiose jusqu'au stade métaphase II.

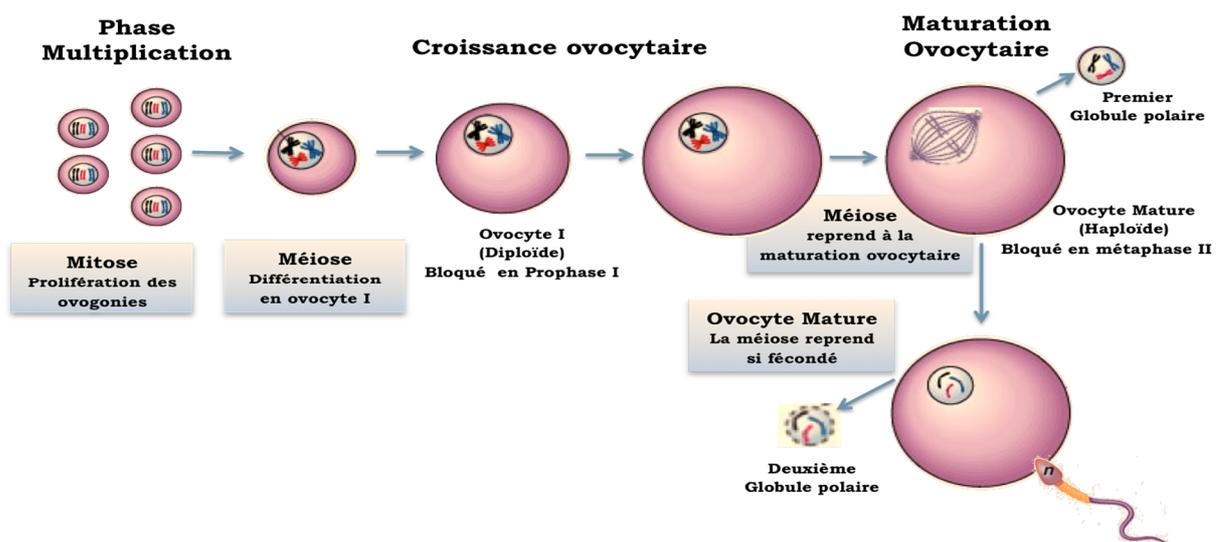


Figure 4 : Représentation schématique des différentes phases de l'ovogenèse (adapté de <http://www.as.miami.edu>).

3. 1. Phase de multiplication

Les ovocytes sont issues d'une lignée de cellules germinales primordiales (CGP) formées pendant la gastrulation qui sont à ce stade communes à la gamétogenèse male et femelle.

A la fin de la troisième semaine du développement embryonnaire les CGP migrent depuis l'ectoderme primaire jusqu'au sac vitellin (Baker 1963). Entre la cinquième et la sixième semaine du développement sous l'influence de cytokines telles que **Kit-ligand** (KL) et des **TGF β** (facteurs de croissance et transformations beta), les CGP migrent depuis le sac vitellin, via l'allantoïde, jusqu'à la crête génitale (Fig. 5) où elles se multiplient par mitoses et colonisent les gonades en développement (Motta et al. 1986). Au même moment la détermination sexuelle commence et en absence du gène SRY dans les gonades XX, les gonades se développent en ovaires et les cellules germinales se différencient en **ovogonies** (Fauser et al. 1999). Après la colonisation des gonades, les ovogonies qui sont des cellules diploïdes, continuent de se multiplier par des divisions mitotiques formant des nids de cellules germinales (Faddy et al. 1992).

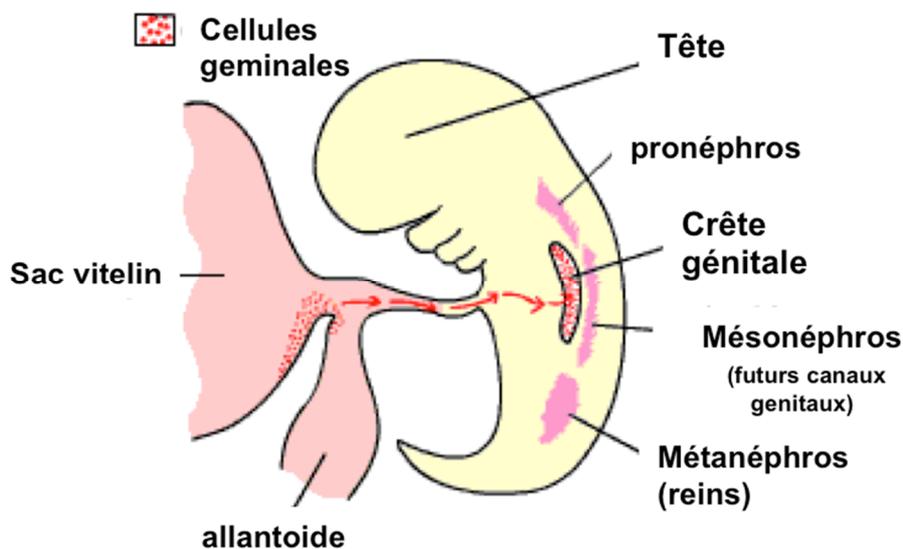


Figure 5 : Migration des cellules germinales chez les Mammifères. Les cellules germinales primitives migrent depuis le sac vitellin jusqu'aux crêtes germinales, via l'allantoïde (adapté de <http://www.snv.jussieu.fr>).

Vers la onzième semaine de développement les ovogonies entrent en méiose et se différencient en ovocytes primaires (**ovocyte I**) (Baker 1963). Ces ovocytes immatures se bloquent au stade diplotène de la prophase de la première division de méiose, avec des chromosomes qui se condensent au sein du noyau appelé **vésicule germinative** (VG). Cet ovocyte reste bloqué en fin de prophase de première division de méiose, au moins jusqu'à la puberté.

3. 2. Croissance ovocytaire

À partir de la puberté des follicules primordiaux sont recrutés et débutent leur développement en parallèle avec les ovocytes. Pendant cette croissance l'ovocyte accumule dans son cytoplasme les organelles, les protéines et les ARNs qui lui seront nécessaires, plus tard, pour la maturation de l'ovocyte, la reprise de la méiose, le blocage de la polyspermie et l'acquisition de la capacité au développement. La majorité de la croissance de l'ovocyte s'effectue entre les stades de follicule primaire et antral. Il est même décrit qu'au moment de la formation de l'antrum l'ovocyte a atteint 80 % de sa taille finale. Après l'ovocyte continue de croître mais de façon beaucoup plus lente jusqu'à l'expulsion de l'ovocyte hors du follicule au moment du pic ovulatoire de l'hormone lutéinisante (LH).

La compétence méiotique, c'est-à-dire, la capacité à reprendre la méiose est associée à la taille de l'ovocyte mais est probablement le reflet de la présence de protéines et/ou activation de protéines. Ainsi tous les changements cytoplasmiques et les interactions entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa et de la thèque qui se font pendant la croissance de l'ovocyte ont un rôle dans l'acquisition de l'aptitude à reprendre la méiose (Thibault et al. 2001)

3. 2. 1. Aspects morphologiques

Dans toutes les espèces la croissance ovocytaire est visible par l'augmentation du volume cytoplasmique et en conséquence la taille de l'ovocyte. Chez l'humain l'ovocyte passe d'un diamètre de 35 μm à un diamètre d'environ 120 μm et son volume augmente de 300 fois (Griffin et al. 2006).

Dans le cytoplasme, un grand nombre d'organelles, d'appareils de Golgi, réticulum endoplasmique et mitochondries se mettent en place et apparaissent des granules corticaux, des granules de glycogène et des gouttelettes lipidiques. Il se forme également, autour de l'ovocyte, une

enveloppe glycoprotéique appelée zone pellucide (**ZP**) et des jonctions perméables qui permettent l'interaction entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa (**CG**).

Pendant toute sa croissance le noyau de l'ovocyte reste bloqué au stade diplotène de la prophase I, cependant il double de taille.

3. 2. 2. Aspects moléculaires

Une grande quantité d'ARN est accumulée pendant la croissance ovocytaire, augmentant d'environ 300 fois son contenu en ARN total. Environ 2/3 de ces ARN sont ribosomiaux, reflet de l'intense activité nucléolaire observée dans la croissance de l'ovocyte et ce jusqu'à l'apparition de l'antrum. Les ARN messagers représentent environ 10% des ARN totaux. La majorité des transcriptions se font pendant la croissance ovocytaire puisque dans l'ovocyte mature (MII) il y a 40% moins d'ARNs que dans l'ovocyte immature (VG) et que toute activité de transcription est indétectable dès la rupture de la vésicule germinative (GVBD) (Dobson et al. 2004, Neilson et al. 2000). En culture il a été décrit une diminution de l'activité transcriptionnelle dès J9 et une quiescence à J12 (Pesty et al. 2007). Les ARNs restant sont stockés dans l'ovocyte et seront traduits plus tard après la fécondation et seront essentiels pour le développement embryonnaire précoce.

La synthèse protéique est importante pendant la croissance de l'ovocyte avec l'accumulation de protéines nécessaires au développement folliculaire/ovocytaire, à la reprise de la méiose et au développement initial de l'embryon. Dès que l'ovocyte initie sa croissance il commence à sécréter un ensemble de 3 glycoprotéines qui formeront la ZP. Il produit aussi des facteurs de croissance tels que le GDF-9 (Growth differentiation factor-9) et le BMP15 (bone morphogenetic protein-15) qui sont indispensables au développement folliculaire (Carabatsos et al. 1998, Dong et al. 1996, Laissue et al. 2006, Matzuk et al. 2002).

Pendant toute sa croissance l'ovocyte reste bloqué en prophase de la première division de la méiose grâce à des inhibiteurs d'origine somatique. Tout facteur de croissance, hormones ou autre protéine avec ce rôle est désigné OMI (Ovocyte Meiotic Inhibitor). Entre plusieurs candidats l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) est l'OMI le plus important important car il a été démontré que des taux élevés d'AMPC dans l'ovocyte inhibent la production

du M-phase promoting factor (MPF) (Downs et al. 1989, Eppig 1989, Mehlmann 2005).

3. 3. Maturation ovocytaire

La maturation ovocytaire est un ensemble de changements cytoplasmiques et nucléaires conduisant à la dissolution de la membrane nucléaire – rupture de la vésicule germinative (GVBD) - et à l'expulsion du premier globule polaire (GP):

- **Reprise de la méiose** avec l'ovocyte qui passe du stade prophase I (VG) au stade métaphase II (MII)
- **Maturation cytoplasmique** qui correspond à la capacité de bloquer la fécondation polyspermiq ue et à l'acquisition de l'aptitude à initier le développement embryonnaire.

3. 3. 1. La reprise de la méiose

Le blocage en prophase I s'achève avec la rupture de la VG quelques heures après le pic de LH et correspond à un passage entre le stade G2 et le stade M du cycle cellulaire. Cette transition G2/M est régulée par l'activation du **MPF**, qui est un hétérodimère composé par une cycline régulatrice – la **cycline B** et une kinase cycline-dépendante – la **CDK1** qui a un rôle catalytique. L'activation/inhibition de ce complexe est directement liée au taux intraovocytaire de molécules telles que l'AMPc. Ainsi il est décrit que des taux élevés d'AMPc dans l'ovocyte inhibe la formation du complexe MPF et inversement leur baisse induit, de façon passive, son activation. Quoique cette variation des taux d'AMPc soit bien connue comme régulateur de la reprise/maintenance de la méiose, les mécanismes qui provoquent cette variation restent à élucider.

Une hypothèse est qu'au moment du pic ovulatoire de LH, une augmentation des taux d'AMPc induit la production de facteurs EGF (epidermal-like growth factors) par les voies de signalisation PKA et PKC. Les facteurs EGF, à leur tour, stimulent l'activité de MAPK (mitogen activated protein kinase) dans les cellules du cumulus, provoquant le blocage des voies de signalisation. Avec la réduction de communication entre l'ovocyte et les cellules du cumulus, la concentration intraovocytaire d'AMPc baisse. Cela

induit la formation du complexe cycline B et CDK1 et la méiose reprend (Fig. 6) (Duckworth et al. 2002, Han et al. 2006). Consécutivement, l'enveloppe nucléaire commence à se plisser, les chromosomes à se condenser et les pores nucléaires disparaissent provoquant la fragmentation de l'enveloppe nucléaire. Les étapes suivantes de la première division méiotique se produisent très rapidement et avec l'expulsion du premier GP, l'ovocyte devient une cellule haploïde.

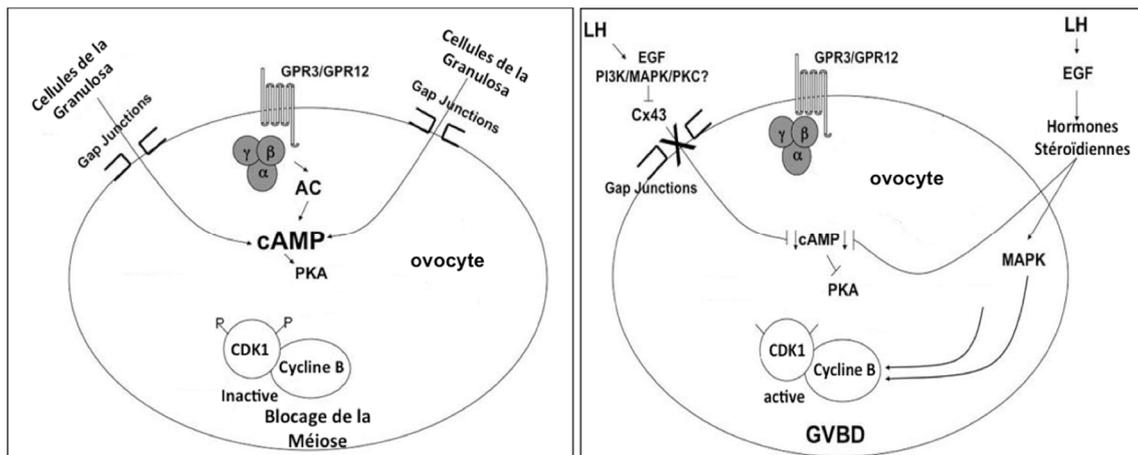


Figure 6 : Représentation schématique de l'hypothèse des taux de cAMP dans le blocage et reprise de la méiose dans l'ovocyte (adapté de <https://www.bioscience.org>).

L'ovocyte, maintenant **haploïde**, initie la deuxième division de la méiose qui se bloque en métaphase II sous l'effet d'un facteur cytoplasmique ovocytaire le **CSF** qui stabilise le complexe MPF et reste ainsi jusqu'à la fécondation.

3. 3. 2. Maturation cytoplasmique

En fin de maturation et après la décharge ovulante de LH les granules corticaux se placent et se disposent au long de la périphérie de l'ovocyte, sous la membrane plasmique. Au moment de la pénétration d'un spermatozoïde les granules libèrent des enzymes dans l'espace périvitelin qui modifieront la structure de la ZP et empêcheront la pénétration de plusieurs spermatozoïdes (Picton et al. 1998), c'est le **blocage de la polyspermie**.

Parallèlement d'autres organelles (mitochondries, Golgi) se rassemblent dans la région périnucléaire sous la dépendance des microtubules. On observe

également une accumulation de granules de glycogène et de gouttelettes lipidiques qui servent de source d'énergie pour la maturation méiotique, fécondation et développement embryonnaire (Grondahl et al. 1995, Kikuchi et al. 2002) ainsi que l'augmentation des niveaux de glutathion qui a un rôle dans la décondensation de la chromatine du pronoyau mâle, diminuant les ponts disulfures et remplaçant des protamines par des histones (Luberda 2005). C'est à ce moment que se produit la traduction des ARNs stockés et non traduits pendant la croissance de l'ovocyte.

4. Folliculogenèse

La folliculogenèse est définie par le développement et la maturation du follicule. Elle débute pendant la vie intra utérine avec la formation du pool de follicules primordiaux, constituant la réserve ovarienne, dans lequel les follicules vont être recrutés et menés à maturation de façon continue depuis la puberté jusqu'à l'épuisement (Gougeon 1986).

La folliculogenèse est caractérisée par 3 grandes étapes :

- **Quiescence** – étape de « dormance » des follicules primordiaux qui constituent la réserve ovarienne jusqu'au moment où à partir de la puberté ils sont recrutés en vague pour débiter leur croissance.
- **Croissance basale** – évolution des follicules du stade primordial jusqu'au stade antral régulée par des facteurs autocrines et paracrines. C'est une étape indépendante des gonadotrophines.
- **Croissance terminale** – étape cyclique dépendante des gonadotrophines qui mène à l'ovulation. Dans cette étape il y a le **recrutement** des follicules antraux susceptibles d'ovuler, la **sélection** du follicule qui poursuivra sa croissance et sa **dominance** qui le mènera à l'ovulation.

4. 1. Stades folliculaires: aspects morphologiques

Le **follicule primordial**, qui mesure environ 30 μm de diamètre, est le plus petit des follicules. Il est constitué d'un ovocyte de petite taille, dont le noyau est bloqué en fin de prophase de la première division de la méiose, entouré d'une seule couche de cellules somatiques, précurseur des CG, aplaties. Cette structure est séparée du stroma par une membrane basale : la membrane de Slavjanski (Fig. 7a).

Le **follicule primaire** a un diamètre compris entre 45 μm et 50 μm . Il est caractérisé par la transformation des cellules periovocytaires qui deviennent cubiques et le début de la formation de la ZP. La transformation de la monocouche de cellules aplaties en cellules cubiques est le premier signe

d'activation de la croissance du follicule et en conséquence de leur sortie du pool de réserve (Fig. 7b).

Les cellules peri-ovocytaires commencent à se multiplier et lorsque le follicule est entouré par au moins deux couches de cellules il est classé en **follicule secondaire** (Fig. 7c). Le diamètre augmente progressivement jusqu'à 200 µm dû à la prolifération, par mitoses successives, des cellules peri-ovocytaires qui prennent alors le nom de **cellules de la granulosa** (CG). Simultanément les cellules du stroma qui lui sont adjointes se différencient formant la thèque. Ces cellules fibroblastiques se stratifient avec la croissance du follicule et se différencient en thèque interne et thèque externe qui sont séparés par des vaisseaux sanguins formant ainsi le **follicule préantral** ou secondaire tardif.

Les CG continuent de proliférer et on voit apparaître des espaces intercellulaires, qui confluent formant une plus grande cavité appelée **antrum** et le follicule est qualifié de **follicule antral** (Fig. 7d).

Pendant la croissance du follicule antral les CG continuent de proliférer, l'antrum s'élargit et on observe la différenciation des CG en deux types cellulaires morphologiquement et fonctionnellement très distincts. Les CG plus proches de la thèque constituent la **granulosa murale** et les CG qui entourent directement l'ovocyte forment le **cumulus oophorus**.

En fin de croissance, le follicule atteint une taille d'environ 20 mm et il est dénommé follicule pré - ovulatoire, follicule mûr ou **follicule de De Graaf** (Fig. 7e). Il est caractérisé par une cavité antrale très volumineuse bordée par la granulosa. L'ovocyte, toujours bloqué en fin de prophase I, fait saillie dans l'antrum et est rattaché à la granulosa par le cumulus oophorus. La granulosa, à son tour, avec la croissance de l'antrum devient de plus en plus fine. La couche de CG qui est directement en contact avec l'ovocyte s'appelle corona radiata.

Après la décharge ovulante de LH, les CG se dissocient et une expansion des cellules du cumulus est observée. Le liquide folliculaire, jusque-là enfermé dans le follicule s'écoule et entraîne avec lui l'ovocyte entouré des cellules du cumulus qui composent le complexe cumulus-ovocyttaire (CCO).

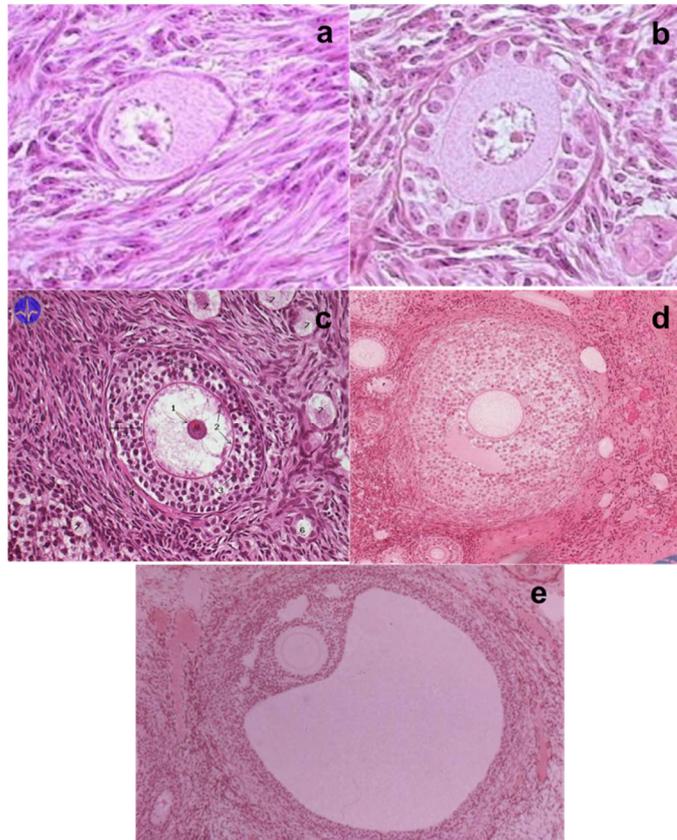


Figure 7 : Coupes histologiques des différents types morphologiques folliculaires : a) follicule primaire; b) follicule primaire; c) follicule secondaire; d) follicule antral (début antrum) et e) follicule pré ovulatoire ou follicule de De Graaf (adapté de <http://www.studyblue.com>).

4. 2. Stades folliculaires : aspects moléculaires

4. 2. 1. Formation des follicules primordiaux

La formation des follicules s'initie avec la rupture des nids de cellules germinales. Au moment du blocage de la méiose, les ovocytes, jusque-là en nids, commencent à être entourés par des cellules somatiques aplaties (pré-granulosa) formant ainsi le follicule primordial. Les mécanismes qui permettent la maintenance et/ou rupture des nids de cellules germinales sont méconnus. Cependant quelques études, chez les rongeurs, montrent un possible rôle des estrogènes et des protéines GDF9, BMP15, FOXL2 et NOBOX, puisque l'absence ou réduction de l'expression de ces gènes induisent des changements dans le temps de rupture des nids et augmentent la

présence de follicules multi ovocytaires (Bristol-Gould et al. 2005, McMullen et al. 2001, Rajkovic et al. 2004, Tingen et al. 2009, Uda et al. 2004). Un facteur de transcription a été décrit comme essentiel à la formation des follicules primordiaux - le **FIGLA** (Factor in the germline, alpha). Ce facteur de transcription a été d'abord décrit comme régulateur des gènes Zp1, Zp2 et Zp3 (Liang et al. 1997). Cependant des études avec des souris KO pour le gène **Figa** montrent que aucun follicule primordial n'est formé en son absence et que les cellules germinales dégénèrent en quelques jours (Soyal et al. 2000) montrant ainsi que ce facteur de transcription est un des facteurs avec un rôle prépondérant non seulement dans les cellules de la lignée germinale mais aussi dans la formation de follicules primordiaux (Joshi et al. 2007).

4. 2. 2. Activation des follicules primordiaux

La sortie du pool de réserve avec l'activation des follicules primordiaux est indépendante du cycle ovarien, donc des gonadotrophines, mais se fait par le biais d'un dialogue moléculaire entre l'ovocyte et les cellules folliculeuses qui l'entourent.

Ce dialogue se fait principalement, grâce à une action coordonnée entre deux voies de signalisation : **TSC/mTORC1** et **PTEN/PI3K** ayant la **AKT** (protéine Kinase B) comme point de liaison (Adhikari et al. 2010, Liu et al. 2006, Reddy et al. 2009).

Dans le follicule primordial l'interaction entre **Kit Ligand** (KL) – produit par les cellules folliculaires, et son récepteur **cKit** (récepteur tyrosine kinase) - localisé sur la surface de l'ovocyte, régule la voie de signalisation PI3K dans l'ovocyte activant l'AKT. Cette dernière inhibe à son tour la transcription de **FOXO3a** (forkheadprotein box O3) et de **CDKN1B** (Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B), impliquées dans l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose. En conséquence, on observe une augmentation de la survie cellulaire, la croissance et l'activation folliculaire (Blume-Jensen et al. 2000, Reddy et al. 2005). L'AKT a aussi comme cible le complexe **TSC2/TSC1** (tuberin/tuberous sclerosis) qui inhibe la transcription de **mTORC1** (mammalian target of rapamycin complex) qui est décrit comme régulateur de la croissance et prolifération cellulaire (Kim 2012, Zheng et al. 2012) (Fig. 8).

De ce fait la régulation de la voie de signalisation PI3K par celle de mTORC1 permet d'éviter l'épuisement prématuré de la réserve ovarienne (IOF).

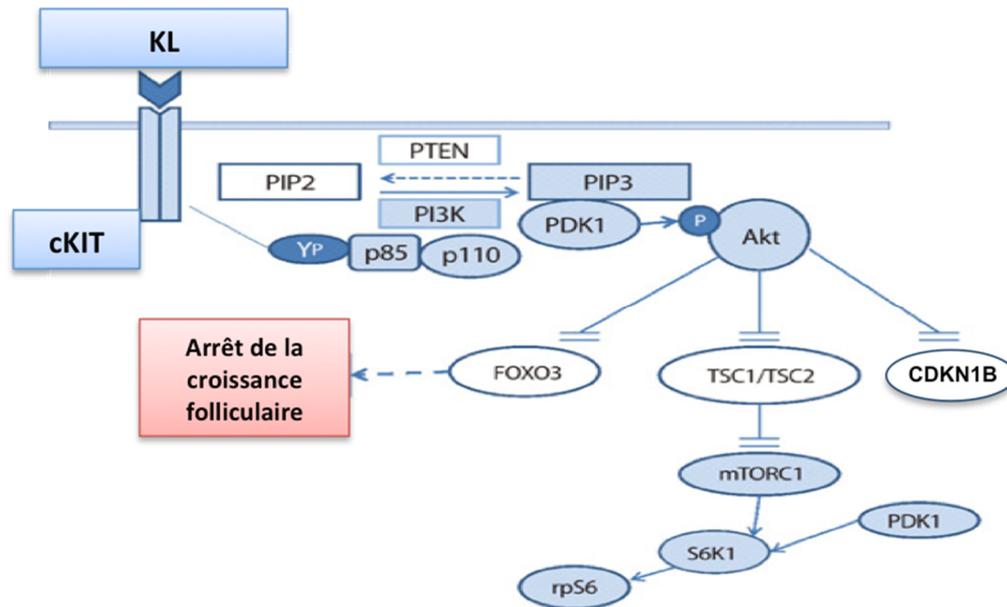


Figure 8 : Voie de signalisation proposée pour l'activation des follicules primordiaux et le maintien de la réserve ovarienne (adapté de Kim 2012).

D'autres facteurs sécrétés par l'ovocyte ou les cellules folliculeuses ont été décrits comme ayant un rôle dans l'activation, le maintien et la transition des follicules primordiaux et primaires :

- **FOXL2** (forkheadprotein box L2) présent dans les cellules folliculeuses aplaties est décrit comme un inhibiteur de l'activation des follicules de la réserve puisque son absence conduit à une insuffisance ovarienne prématurée (Schmidt et al. 2004, Uda et al. 2004).
- L'**hormone anti-müllérienne** (AMH), sécrétée par les CG en croissance jouerait aussi un rôle déterminant dans le maintien de la quiescence folliculaire, mais les voies de signalisation et cellules cibles de cette hormone restent inconnues (Durlinger et al. 1999, Nilsson et al. 2007).
- **PDGF** (platelet-derived growth factor), **bFGF** (basic fibroblast growth factor) et **LIF** (leukemia inhibiting factor) semblent avoir un rôle indirect dans la régulation de l'activation et l'entrée en croissance des follicules primordiaux en stimulant la sécrétion de KL (Nilsson et al. 2001, Nilsson et al. 2006, Skinner 2005)

D'autres facteurs de transcription tels que **SOHLH1** (spermatogenesis and Oogenesis Specific Basic Helix-Loop-Helix) et **NOBOX** (newborn ovary homeobox) ont aussi été décrits comme ayant un rôle dans l'activation et la maintenance des follicules primordiaux mais leur rôle spécifique reste à élucider (Pangas et al. 2006, Rajkovic et al. 2004).

4. 2. 3. Follicule primaire

Dès que le follicule commence sa croissance les CG présentent des prolongements cytoplasmiques qui pénètrent la ZP et forment des Gap junctions, composées de connexines (CX), avec la membrane de l'ovocyte permettant la communication et les échanges métaboliques entre l'ovocyte et les CG (Eppig 1991, Matzuk et al. 2002). Le stade de follicule primaire est aussi caractérisé par le début de la traduction d'ARN et plus précisément par la synthèse des glycoprotéines ZP1, ZP2 et ZP3 qui constituent la **zone pellucide** (ZP) (Gougeon 1986).

Des facteurs de croissance tels que **GDF-9** (Growth differentiation factor-9) et **BMP15** (bone morphogenetic protein-15) commencent à être exprimés dans l'ovocyte et stimulent la **prolifération des CG et leur survie** (Carabatsos et al. 1998, Dong et al. 1996, Matzuk et al. 2002).

Même si dès le stade de follicule primaire des récepteurs à l'Hormone folliculo stimulante (FSH) et à l'Hormone lutéinisante (LH) sont déjà détectables (Kol et al. 1995, O'Shaughnessy et al. 1996, Oktay et al. 1997a) les gonadotrophines ne sont pas nécessaires à la croissance folliculaire, à ce stade, puisque les follicules atteignent les stades suivants en leur absence (Dierich et al. 1998).

4. 2. 4. Follicule secondaire et préantral

À ce stade les CG subissent une grande activité mitotique et prolifèrent sous l'influence de facteurs internes. Parallèlement les cellules de la thèque aussi se multiplient, se stratifient et se différencient en thèque externe et interne (Dong et al. 1996, Ito et al. 2001). Les cellules de la thèque externe sont similaires aux cellules du stroma qui l'entourent, tandis que les cellules de la thèque interne se différencient et deviennent morphologiquement semblables à des cellules sécrétoires (Gougeon 2010). Les deux thèques sont

séparées par des vaisseaux sanguins et à partir de ce moment le follicule est exposé à la circulation sanguine (Gougeon 2010, Reynolds et al. 1992).

Plusieurs facteurs ont été proposés soit comme régulateurs de la prolifération et/ou de la survie des CG et de la thèque soit comme inhibiteurs d'activité des récepteurs FSH tels que les facteurs de croissance **GDF9**, **BMP15** (Hreinsson et al. 2002, Otsuka et al. 2000), l'**activine A** (Li et al. 1995, Yokota et al. 1997, Zhao et al. 2001), l'**inhibine B** (Smitz et al. 1998), l'**EGF** (epidermal growth factor) (Roy 1993), l'**HGF** (hepatocyt growth factor) et le **FGF2** (fibroblast growth factor 2) (Parrott et al. 1994).

4. 2. 5. Follicule antral

Ce follicule est caractérisé par la présence d'une cavité - l'antrum, rempli d'un liquide folliculaire qui est composé par des sécrétions des CG et par un transsudat sérique qui devient source d'oxygène et stocke plusieurs molécules comme des carbohydrates, acides aminés, facteurs de croissance et hormones entre autres.

Quand le follicule atteint une taille de 2 mm les récepteurs FSH et LH deviennent sensibles à l'action des gonadotrophines passant à un développement complètement dépendant des hormones **FSH** et **LH** et de leurs fluctuations pendant le **cycle menstruel** (Gougeon 1986).

Sous l'influence des gonadotrophines, les follicules produisent maintenant des androgènes et des œstrogènes qui contribuent au développement folliculaire ainsi qu'à la différenciation des CG en deux types cellulaires morphologiques et fonctionnellement différents (Sanchez et al. 2012).

Les CG plus proches de la thèque - **granulosa murale**, ont un rôle plutôt endocrine et les cellules qui entourent directement l'ovocyte correspondant au cumulus oophorus, ont un rôle prépondérant dans la maturation ovocytaire et son métabolisme (Matzuk et al. 2002).

Peu avant l'ovulation, le pic de LH provoque indirectement l'expansion du CCO qui est accompagnée d'une production d'acide hyaluronique qui aide à l'expansion des cellules du CCO. Cette expansion du CCO est essentielle à la maturation de l'ovocyte car sans elle le taux d'ovocyte mature est moindre (Eppig 1982, Gougeon 2010, Park et al. 2004).

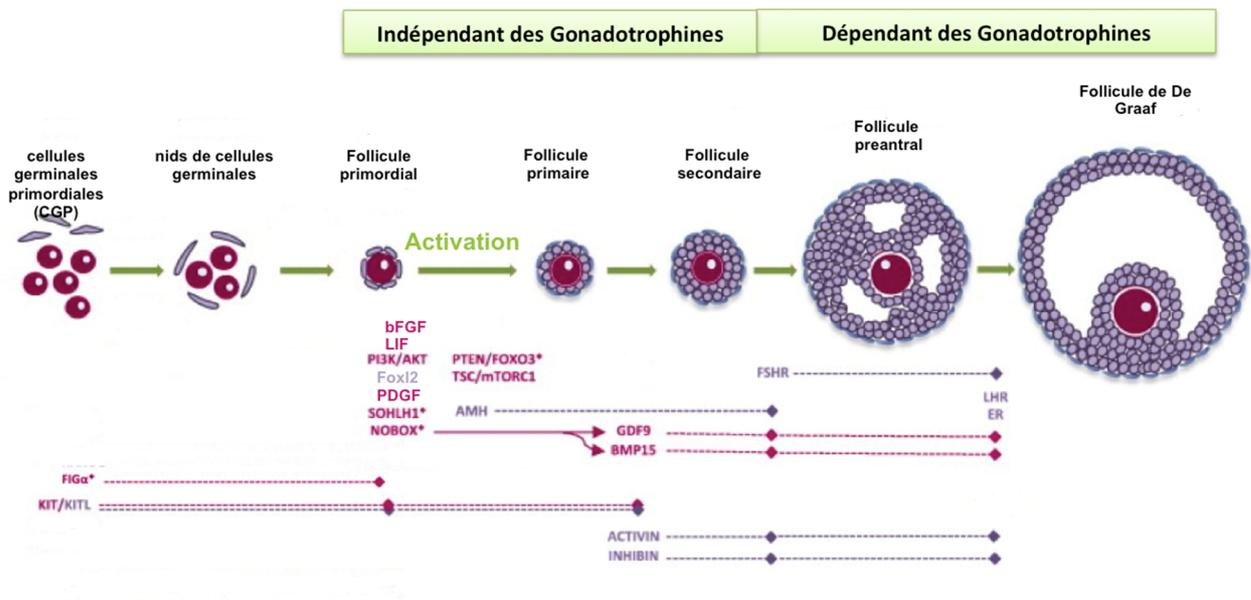


Figure 9 : Schéma de l'influence de quelques facteurs dans les différents stades du développement folliculaire. En rose les facteurs produits/présents dans les cellules germinales et en violet ceux produits/présents dans les cellules somatiques (adapté de Sanchez et al. 2012)

4. 3. Cycle menstruel

Le cycle menstruel est une variation cyclique et régulière de la zone fonctionnelle de l'endomètre (cycle utérin) induite par la cyclicité de la folliculogenèse terminale au niveau de l'ovaire (cycle ovarien) qui débute à la puberté. Ces deux cycles sont sous contrôle neuro endocrinien et se déroulent de façon synchrone. Il est communément défini comme l'intervalle de temps entre deux menstruations successives. Conventionnellement il débute au premier jour des règles et dure environ 28 jours. Cependant cette durée est très variable d'une femme à l'autre, et peut également varier d'un cycle à l'autre chez la même femme. Il est divisé en une **phase folliculaire** ou pré ovulatoire qui conduit à l'ovulation, l'**ovulation** elle-même puis à une phase post ovulatoire appelée **phase lutéale** qui correspond à la préparation de l'utérus à la nidation.

4. 3. 1. Le contrôle hormonal du cycle menstruel

Tout le cycle menstruel et les modifications associées sont sous contrôle des oestrogènes et de la progestérone qui sont produits par l'ovaire, et des gonadotrophines FSH et LH qui sont produites par l'hypophyse et régulés par l'hypothalamus. L'hypothalamus sécrète de manière pulsatile la GnRH (gonadotropin releasing hormone). Cette dernière stimule la sécrétion, également de façon cyclique et pulsatile, des gonadotrophines FSH et LH par l'hypophyse. L'amplitude et la fréquence des pulses de GnRH déterminent les variations de sécrétion des gonadotrophines au long du cycle menstruel. La FSH et la LH agissent sur le follicule ovarien en croissance et le corps jaune. Ainsi au cours de la première partie du cycle (phase folliculaire), la croissance et la maturation du follicule sous influence de la FSH doivent attendre un certain seuil de développement en dessous duquel la croissance folliculaire s'arrête. Les follicules en croissance secrètent, à leur tour, des oestrogènes qui eux vont induire la prolifération de l'endomètre, qui est la muqueuse qui recouvre la cavité utérine. Quand le follicule atteint la maturité, le taux croissant d'oestrogènes dans le sang est à son maximum signalant à l'hypophyse que le follicule est prêt à expulser son ovocyte. Ce signal provoque une réduction des taux de FSH en dessous du seuil de développement et une forte augmentation de la libération de LH par rétrocontrôle positif. Cette poussée de LH est appelé le **pic ovulatoire** et déclenche l'ovulation qui survient environ 36 heures après. Pendant la phase lutéale les taux de FSH et LH diminuent rapidement et le follicule ovulatoire, qui s'est rompu, se transforme en corps jaune (corpus luteum). Le corps jaune sécrète de la progestérone qui prépare l'endomètre à la nidation. En absence d'implantation le corps jaune régresse et devient un corpus albicans. Cette dégénérescence comporte une chute dans les taux de progestérone ce qui induit la desquamation de l'endomètre et les saignements caractéristiques des cycles menstruels. Si la fécondation a lieu le corps jaune persiste pendant trois mois environ et prend le nom de corps jaune gestatif. Celui-ci assure le maintien des taux de progestérone nécessaires à la nidation et à la croissance de l'embryon implanté.

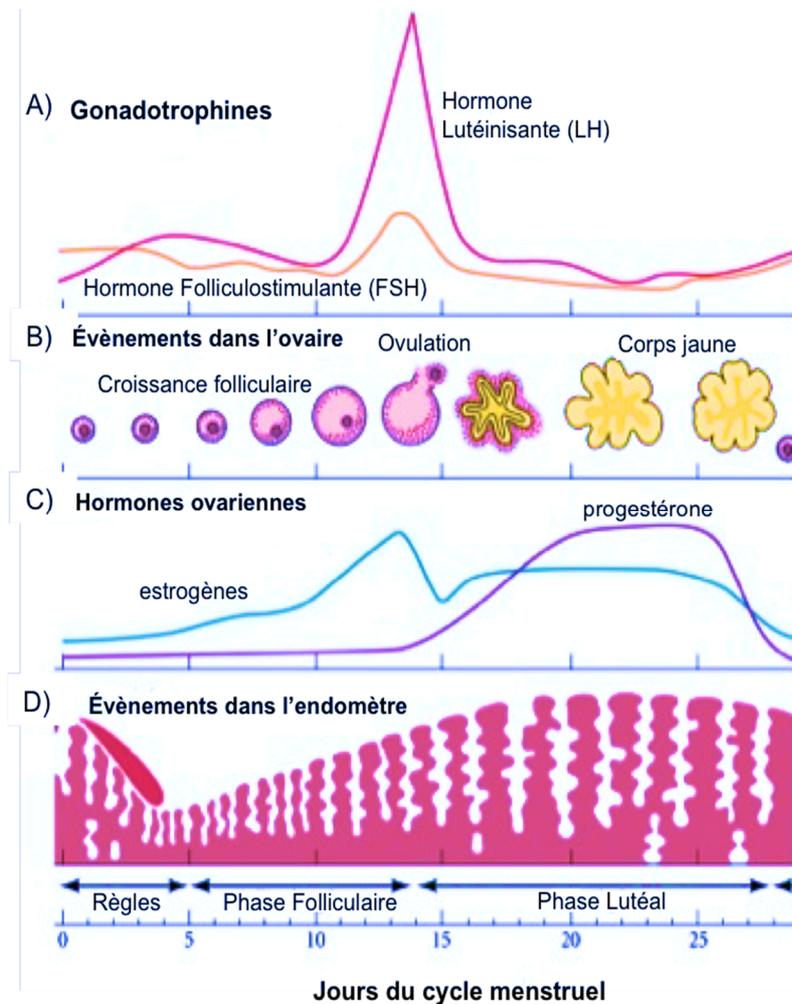


Figure 10 : Représentation schématique des différents événements qui ont lieu en parallèle au cours du cycle menstruel : A) courbes des taux de gonadotrophines ; B) événements dans l'ovaire ; C) courbes des taux d'hormones ovariennes et D) l'influence dans l'endomètre (adapté de <http://9e.devbio.com>).

4. 4. Dynamique de la croissance folliculaire

Comme indiqué auparavant la croissance folliculaire au sein de l'ovaire se fait en plusieurs étapes. Dans un premier temps plusieurs follicules primordiaux sortent continuellement de la réserve ovarienne et débutent une longue croissance appelée **croissance basale**. Cette croissance débute par groupes de plusieurs dizaines de follicules tous les jours. Chez l'humain il est estimé qu'un follicule qui débute sa croissance met 2 à 3 mois pour atteindre le stade de follicule préantral et puis environ 70 jours pour l'apparition de l'antrum et atteindre la taille minimale de 2 mm. Les follicules continuent de

croître et en fin de phase lutéale du cycle précédent, il y a le **recrutement**, dû à l'élévation transitoire du taux de FSH, d'une cohorte de follicules cavitaires devenus sensibles aux gonadotrophines. Ces follicules initient leur **croissance terminale** complètement dépendante des gonadotrophines et qui se déroule entièrement pendant un cycle menstruel.

La croissance des follicules recrutés se poursuit de façon inégale due à leurs différentes tailles et sensibilité aux gonadotrophines. En conséquence, parmi ceux-là un se développe plus rapidement que les autres, et devient plus sensible à la FSH qui diminue. Celle-ci atteint un seuil auquel un seul follicule continue capable de répondre et de continuer sa croissance. C'est la **sélection** du follicule ovulatoire. Ce follicule exerce alors une **dominance** sur les autres et il est le seul qui continue de croître. La croissance terminale s'achève avec l'expulsion de l'ovocyte mature - **l'ovulation**.

A noter que pendant toute la folliculogénèse il existe une forte atrophie des follicules puisque d'un large groupe de plusieurs follicules primordiaux ayant débuté leur croissance un seul expulsera son ovocyte.

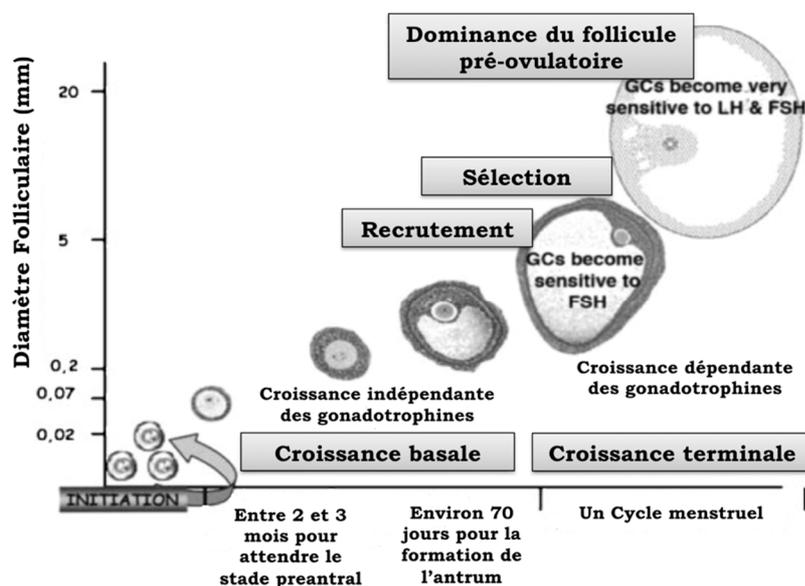


Figure 11 : Schéma représentatif des différentes étapes de la croissance folliculaire (adapté de Gougeon 2010).

B. Croissance Folliculaire *in vitro*

La culture de follicules ovariens est une technique qui permettrait la croissance et le développement de follicules ovariens depuis le stade primordial jusqu'au stade de follicule ovulatoire aboutissant à l'obtention d'un ovocyte mature compétent.

Le développement des techniques de croissance folliculaire et maturation ovocytaire *in vitro* est d'un grand intérêt pour la recherche et la médecine de la reproduction autant chez l'humain que dans d'autres espèces. La croissance *in vitro* de follicules ovariens est un important instrument de recherche car il permet l'étude biologique de la folliculogenèse permettant d'approfondir les connaissances sur ce processus complexe. En assistance médicale à la procréation ceci est d'autant plus important car cela pourrait permettre l'utilisation de fragments ovariens cryoconservés dans le but de préserver la fertilité de patientes nécessitant un traitement hautement stérilisant et qui ne se situent pas dans la possibilité d'une autogreffe de tissu ovarien du fait du risque de réintroduction de la maladie (Meirow et al. 2008, Picton et al. 2000).

Malgré quelques travaux plus anciens, la recherche concernant la croissance folliculaire *in vitro* s'est intensifié au milieu des années 1990. Ainsi, plusieurs techniques de culture folliculaire ont été depuis développées à partir soit du tissu ovarien, soit de follicules isolés. La croissance d'une structure si complexe, le follicule, *ex vivo* présente d'innombrables défis liés d'une part à la perte de la vascularisation, et d'autre part à la perte de paramètres cellulaires et structuraux une fois retirés de leur environnement, quand les follicules sont isolés. Ainsi, le choix des techniques, milieux et supports de culture folliculaire doivent non seulement tenir compte de l'origine des follicules (congelé ou frais, dans des fragments d'ovaire ou isolés) et du stade de développement initial, mais aussi répondre simultanément à plusieurs paramètres physiologiques et moléculaires de façon à offrir à l'ovocyte, aux cellules de la granulosa, de la thèque et aux cellules du stroma, les conditions nécessaires à leur développement en culture (Fig. 12).

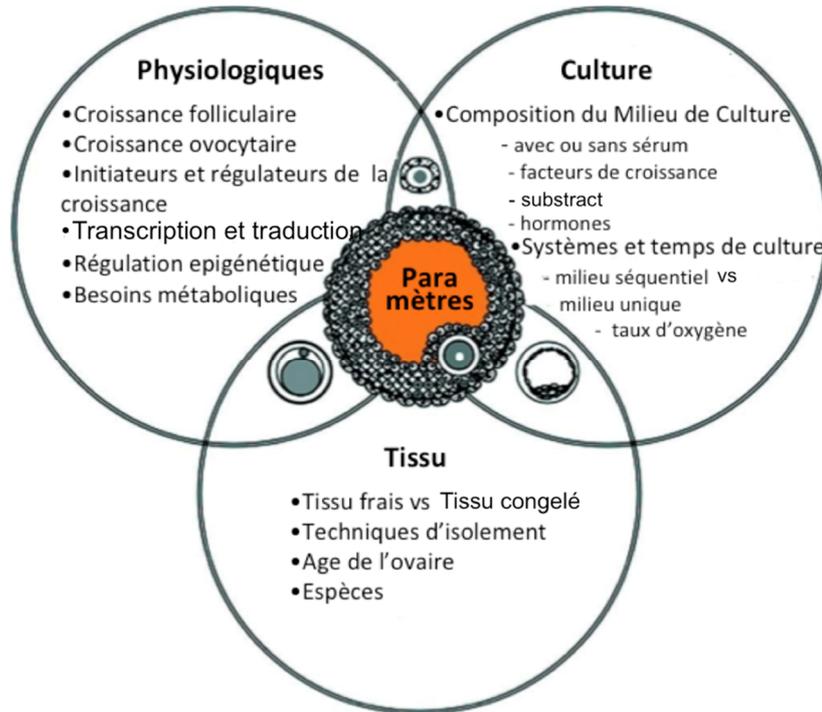


Figure 12 : Résumé des paramètres à prendre en compte pour la croissance et maturation *in vitro* d'ovocytes chez les mammifères selon Picton (Picton et al. 2003). Les paramètres sont à adapter selon les différentes étapes de culture

1. Types de cultures

Pour l'étude de la croissance folliculaire *in vitro* plusieurs types de culture et systèmes de culture ont été développés. Ceux-ci sont adaptés au stade de développement folliculaire auquel débute la culture, l'espèce utilisée et le but de la culture. Cependant, tous les systèmes de cultures décrits jusqu'à présent peuvent se situer dans deux types :

- **Culture de fragments de cortex ovarien** ou *in situ* qui correspond à la croissance folliculaire au sein de l'ovaire.
- **Culture de follicules isolés** qui correspond à la croissance folliculaire après un isolement de la structure folliculaire du tissu ovarien.

1. 1. Culture *in situ*

Dans ce type de culture des fragments de cortex ovarien sont directement mis en culture. De cette façon, les follicules sont d'une part maintenus dans un environnement semblable à celui qu'ils ont *in vivo*, conservant leur structure et un contact direct avec le stroma, et d'autre part les dommages que peuvent causer les techniques d'isolement du follicule sont évités. Ce type de culture est le plus fréquemment utilisé, pour induire l'activation des follicules primordiaux et leur croissance jusqu'au stade préantral.

La densité et l'épaisseur du stroma semblent être déterminants pour ce type de culture et plus précisément pour l'activation des follicules primordiaux. Des études chez l'humain (Telfer et al. 2008) et chez d'autres mammifères (McLaughlin et al. 2010, Wandji et al. 1996) montrent que dans des fragments d'ovaire où le stroma a été diminué au maximum, l'activation des follicules primordiaux se fait plus rapidement et en plus grand nombre comparés avec d'autres études qui mettent en culture des fragments d'environ 1mm d'épaisseur (Hovatta et al. 1997), puisque les follicules dans les fragments de cortex ovarien avec plus de stroma sont exposés à des facteurs inhibiteurs à l'activation de la croissance folliculaire (McLaughlin et al. 2009, Telfer et al. 2013).

1. 2. Culture de follicules isolés

Une autre méthode pour faire croître des follicules ovariens *in vitro* est de mettre en culture les follicules en culture après les avoir libérés du tissu conjonctif de l'ovaire.

Ainsi, la première étape pour ce type de culture est l'isolement des follicules.

La culture de follicules isolés a été décrite pour tous les stades de développement, cependant elle est essentiellement associée à la croissance folliculaire à partir du stade de follicule secondaire (Picton et al. 2008). Pour la culture de follicules secondaires isolés, essentiellement deux systèmes peuvent être proposés pour cette espèce :

- **Culture en phase liquide ou 2D** : culture en monocouche avec adhésion au support de culture et dans lequel le follicule perd sa structure tridimensionnelle.
- **Culture organotypique ou 3D** : technique dans laquelle le follicule pendant toute la culture conserve sa structure tridimensionnelle.

1. 2. 1. Isolement des follicules

L'isolement des follicules ovariens pour culture se fait essentiellement par deux méthodes. La première est l'**isolement mécanique** à l'aide de fines aiguilles ou de petits scalpels. Avec cette technique, l'intégrité de la membrane de Slavjanski est maintenue et les follicules possèdent aussi des cellules de la thèque, permettant ainsi de mettre en culture toute la structure folliculaire. Cependant, même si cette technique a été décrite dans plusieurs espèces elle rencontre des difficultés quand appliquée à des espèces dont les ovaires sont très fibreux comme c'est le cas des grands mammifères et l'humain, nécessitant des temps de manipulation très longs et présentant un nombre de follicules obtenus très faible (Telfer et al. 2000, Telfer et al. 2013).

L'autre est l'**isolement enzymatique** qui consiste à l'exposition du tissu ovarien à des enzymes telles que la collagénase et/ou DNase suivie d'un isolement mécanique. Cependant, avec cette technique la membrane de Slavjanski est altérée et les cellules de la thèque dissociées de la structure folliculaire. La réduction du temps d'exposition à l'enzyme, peut minimiser ces effets. Quand cette technique d'isolement est utilisée on parle quand même de culture de follicules isolés mais, en fait, elle traite des complexes ovocyte-cellules de la granulosa.

2. La souris comme modèle

Le matériel biologique humain étant très peu disponible, les modèles animaux, dans la recherche, sont indispensables comme étape préliminaire pour obtenir des éléments de travail et de réflexion nécessaires pour travailler chez l'humain. Même si la souris présente des différences majeures avec la physiologie ovarienne de la femme elle reste néanmoins le modèle le plus largement étudié, étant de plus, le seul modèle pour lequel les différents systèmes de culture ont abouti à la naissance de souriceaux (Carroll et al. 1990, Eppig et al. 1989, Eppig et al. 1996, O'Brien et al. 2003, Xu et al. 2006a).

Chez la souris, les ovaires sont beaucoup plus petits que dans d'autres espèces, beaucoup moins fibreux et ont la particularité de débiter leur folliculogénèse au moment de leur naissance. Ainsi, dans les premiers jours après la naissance, la population folliculaire chez la souris est très homogène. Ces caractéristiques ont permis le développement des techniques de culture concernant :

- **ovaire entier** qui se compare à la culture au sein de fragments ovariens chez les plus grands mammifères. Elle est surtout utilisée pour l'activation des follicules primordiaux et leur développement jusqu'au stade secondaire (Eppig et al. 1996).
- **follicules isolés**. L'ovaire peu fibreux et contenant une population folliculaire très homogène chez la jeune souris permet l'isolement mécanique, à l'aide de fines aiguilles, de follicules à différents stades de leur développement selon l'âge de la souris (Hartshorne 1997). Même si la culture de follicules isolés à plusieurs stades de développement est décrite le stade le plus fréquemment étudié, pour cette espèce, est la culture des follicules secondaires.

2. 1. Culture de follicules isolés

2. 1. 1. Culture en phase liquide ou 2D

Dans ce type de culture les follicules isolés sont généralement placés dans un milieu sur un support plastique et recouverts d'huile minérale (Cortvrindt et al. 1998, Eppig et al. 1989, Eppig et al. 1996). Ceci entraîne un attachement des follicules au support de culture qui allié à l'intense prolifération des cellules de la granulosa provoque la rupture de la membrane de Slavjanski et l'étalement du follicule sur une surface bidimensionnelle. Même s'il a été décrit que la perte de la structure tridimensionnelle et l'étalement des cellules de la granulosa compromettent la communication étroite avec l'ovocyte (Fig. 13A) (West et al. 2007a), ce système de culture est depuis des années utilisé pour des études comparatives sur la croissance folliculaire *in vitro* chez la souris.

De nombreux paramètres comme le diamètre folliculaire et ovocytaire lors de la croissance, la capacité de l'ovocyte à reprendre la méiose, la configuration de la chromatine, l'activité transcriptionnelle, la survenue d'oscillations calciques intracytoplasmiques, entre autres, ont été analysées pendant la croissance en système 2D et les résultats obtenus ont été considérés comme comparables à ceux obtenus *in vivo* (Cortvrindt et al. 2002, Pesty et al. 2007, Sun et al. 2004). De plus, la croissance folliculaire et les différences morphologiques associées sont facilement observables au microscope, avec la culture 2D (Fig. 13B). La production d'hormones stéroïdiennes et de protéines est également mesurable par dosage dans le milieu de culture (Dorphan et al. 2012, Smitz et al. 1998). De surcroit, ce type de culture a été un des premiers à avoir été validé par l'obtention de souriceaux viables après croissance folliculaire *in vitro* (Cortvrindt et al. 1996, dela Pena et al. 2002, Eppig et al. 1989, Eppig et al. 1996, Liu et al. 2001, O'Brien et al. 2003).

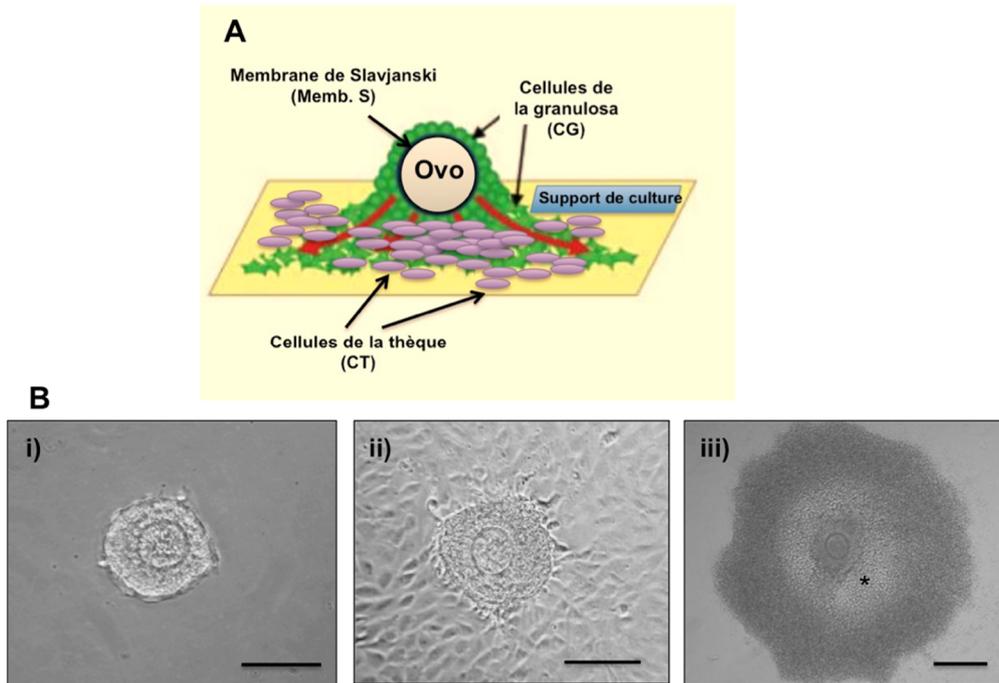


Figure 13 : Croissance *in vitro* de follicules secondaires dans un système en phase liquide (2D). A) illustration de la perte de la structure tridimensionnelle du follicule et réorganisation des cellules (adapté de West et al. 2007b). B) images de la croissance folliculaire le jour de la mise en culture JO (i) ; après 4 jours de croissance *in vitro* avec les cellules de la thèque étalées sur le support (ii) ; et follicule en fin de culture J12 avec la présence d'une cavité antrum-like * (iii) Barre d'échelle =100 μ m.

2. 1. 2. Culture organotypique ou 3D

Dans ce type de culture le follicule garde sa structure tridimensionnelle tout au long de la croissance *in vitro* par l'absence d'adhésion des follicules au support de culture. Le follicule présente alors une croissance radiaire à partir de l'ovocyte et les interactions ovocyte-cellules folliculaires sont maintenues (Fig 14A).

Les systèmes de culture en 3D peuvent être réalisés par :

- Utilisation de **membranes hydrophobes** (Nayudu et al. 1992)
- Utilisation de matériels de support coniques qui empêchent l'adhésion, associés à un changement journalier du milieu des puits de culture (Fehrenbach et al. 1998, Vitt et al. 1998)
- Inclusion dans des **capsules de matrice d'hydrogel** (Carroll et al. 1991b, Gomes et al. 1999, Torrance et al. 1989, West et al. 2007b, Xu et al. 2006b).

Le système le plus souvent utilisé pour la culture 3D est l'inclusion dans des capsules de matrice, composées le plus fréquemment par des hydrogels naturels tels que le collagène ou l'alginate. Les hydrogels miment la matrice extracellulaire ovarienne et sont perméables, permettant aussi la diffusion de nutriments, les échanges gazeux et l'efflux des déchets cellulaires produits par le follicule, en maintenant les interactions entre ovocyte-cellules folliculaires (Fig. 14A). Les premières inclusions de follicules préantraux isolés dans des matrices datent de la fin des années 1980 utilisant du collagène (Torrance et al. 1989) et ont permis l'amélioration des conditions de culture chez la souris et d'autres espèces (Carroll et al. 1991a, Gomes et al. 1999, Vanhoutte et al. 2009). À ce jour l'hydrogel le plus fréquemment utilisé est l'alginate. Les différentes études ont montré que les follicules préantraux, inclus dans des capsules d'alginate, atteignaient un diamètre similaire à celui observé *in vivo* (Pangas et al. 2003) et permettait la différenciation des cellules folliculaires, la formation de l'antrum, la maturation ovocytaire et la production d'hormones, ceci en ajustant la rigidité de la capsule en faisant varier la concentration en alginate (West et al. 2007b, Xu et al. 2006b). Cette technique (Fig. 14B) a également permis la naissance de souriceaux (Xu et al. 2006a).

Cependant une étude récente montre que les ovocytes maturés avec cette technique présentent des anomalies dans la formation du fuseau méiotique et l'alignement des chromosomes, dans la formation des granules corticaux ainsi que dans l'expulsion du premier globule polaire (Mainigi et al. 2011).

Une nouvelle approche utilisant un mélange d'alginate et de fibrine a également été décrite. L'ajout de la fibrine permet la diminution de la rigidité et de la concentration des capsules en alginate, qui peut nuire à la croissance du follicule. De plus la fibrine est dégradable. Ainsi elle peut être dissoute au long de la culture par le follicule lui-même en produisant des protéases, tout en gardant sa structure 3D, maintenue par l'alginate. Cette nouvelle approche semble aussi mimer le comportement du follicule au sein de l'ovaire puisque pendant son développement le follicule passe d'un cortex rigide à la médullaire plus lâche (Shikanov et al. 2009, 2011).

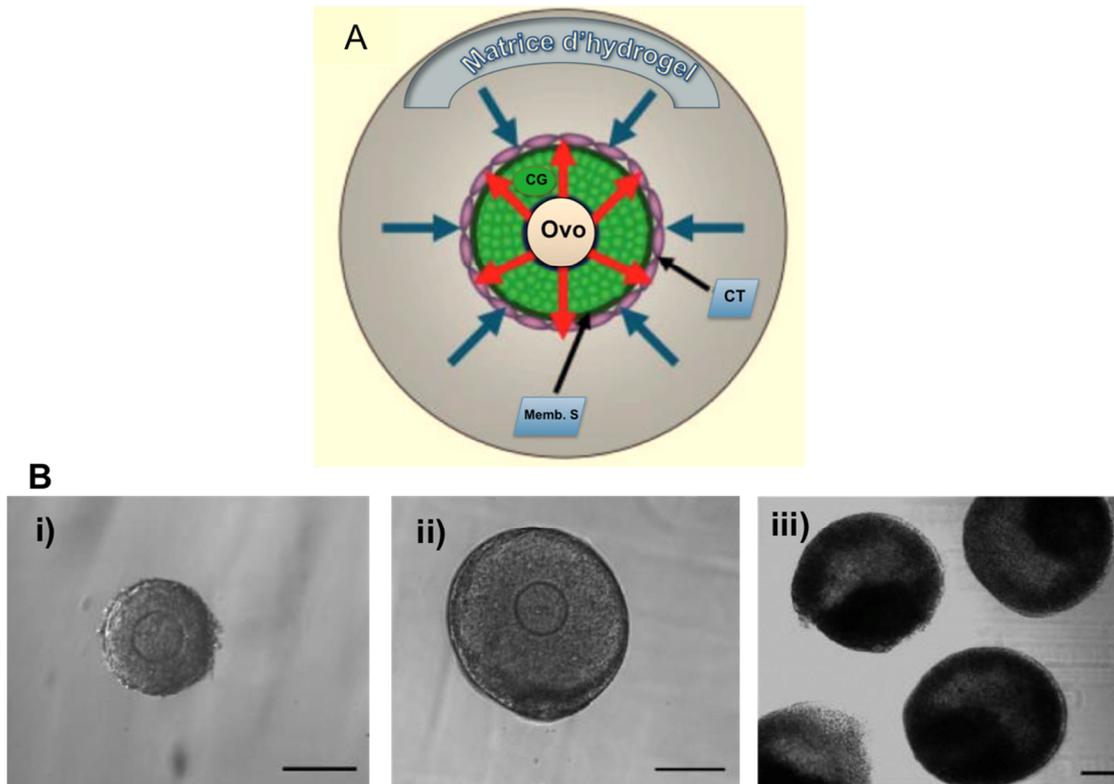


Figure 14 : Croissance *in vitro* de follicules secondaires dans un système de capsules de matrice d'hydrogel (3D). A) illustration du maintien de la structure tridimensionnelle du follicule et interaction avec les cellules somatiques (adaptée de West et al. 2007b) B) images de la croissance folliculaire au jour de la mise en culture J0 (i) ; après 4 jours de croissance *in vitro* avec une augmentation de taille (ii) ; et follicule en fin de culture J12 (iii) (adapté de Xu et al. 2006a). Barre d'échelle =100 μm .

3. Chez l'humain

Chez l'humain les résultats de la croissance folliculaire *in vitro* sont beaucoup plus limités que dans les autres espèces. Ceci est dû d'une part à une faible disponibilité du matériel biologique pour l'étude et d'autre part, au temps extrêmement long que nécessite la folliculogénèse, environ 7 mois chez la femme (Gougeon 1986). La densité du stroma ovarien, chez l'humain, ainsi que le manque de connaissance des mécanismes du développement folliculaire et ses régulateurs, nécessaires à la mise au point de milieux et systèmes de culture adaptés rendent la croissance de follicules ovariens humains encore plus difficiles (Hovatta et al. 1997, Lass et al. 1997).

Malgré cela, les progrès obtenus sont très prometteurs et sembleraient indiquer cette technique comme une vraie alternative à la greffe de fragments ovariens.

3. 1. Différentes approches de culture

Plusieurs techniques de croissance *in vitro* de follicules ovariens, chez l'humain, utilisant soit du tissu frais soit du tissu ovarien congelé ont été étudiées. À ce jour, 3 approches différentes ont été décrites permettant un développement folliculaire :

- **Culture *in situ*** : culture de petits fragments de cortex ovarien, préservant ainsi les conditions naturelles du follicule. Cette technique a permis l'activation des follicules primordiaux et leur développement jusqu'au stade secondaire (Hovatta et al. 1997, Hreinsson et al. 2002, Sadeu et al. 2006, Wright et al. 1999).
- **Culture de follicules isolés** : culture de follicules primaires ou secondaires après dissection mécanique et/ou enzymatique. Avec cette technique la littérature décrit une croissance jusqu'au stade qui suit immédiatement le stade folliculaire choisi (Abir et al. 1997, Abir et al. 1999, Hovatta et al. 1999, Oktay et al. 1997b, Roy et al. 1993, Xu et al. 2009).
- **Culture par étapes** : le type de culture est adapté au stade de développement, avec une première étape *in situ* suivie d'une culture de follicules isolés (Telfer et al. 2008).

Tableau I: Résumé des principaux résultats obtenus pour la culture de follicules ovariens humains, utilisant soit du tissu frais (F) soit après cryoconservation (C) en fonction du système de culture in situ (■) ou de follicules isolés (■) et du stade folliculaire.

	Primordial	Primaire	Secondaire	Antral
Roy et al. (F) (Roy et al. 1993)			■	
Abir et al. (F) (Abir et al. 1997)			■	
Hovatta et al. (C) (Hovatta et al. 1997)	■	■	■	
Wright et al (F) (Wright et al. 1999)	■	■	■	
Abir et al. (F) (Abir et al. 1999)		■	■	
Hreinsson et al. (F) (Hreinsson et al. 2002)	■	■	■	
Sadeu et al. (C) (Sadeu et al. 2006)	■	■	■	
Telfer et al. (F) (Telfer et al. 2008)	■	■	■	■
Xu et al. (F) (Xu et al. 2009)			■	■

Ainsi, le passage d'un certain stade folliculaire au stade immédiatement suivant a déjà été décrit chez l'humain, mais le développement folliculaire complet, à partir du même follicule, reste un challenge très important à relever. Cependant une étude utilisant une culture séquentielle avec une première étape de culture in situ suivi de l'isolement et culture de follicules à un stade déterminé a permis le développement de follicules primordiaux jusqu'au stade de follicule antral en seulement 10 jours (Telfer et al. 2008) (Fig. 15).

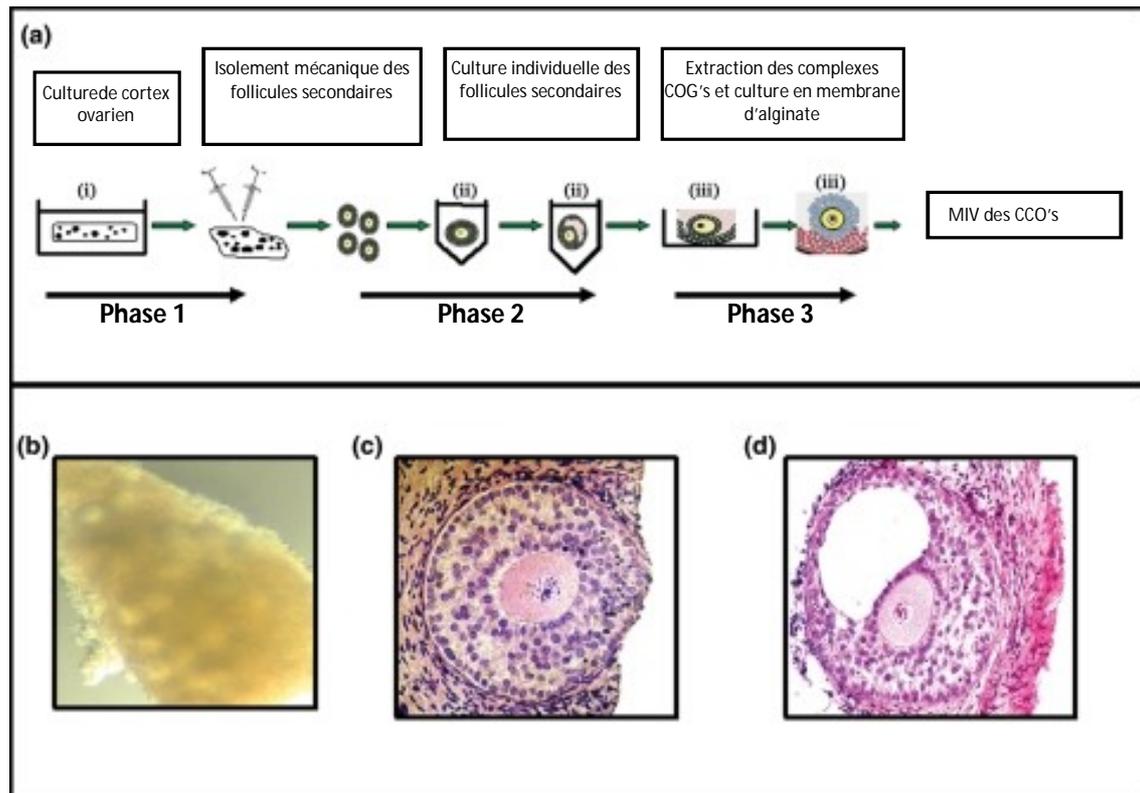


Figure 15 : Développement *in vitro* de follicules humains, en 3 phases.(a) Schéma des différentes étapes de la culture des follicules primordiaux jusqu'au stade de follicule à antrum (i-ii) extraction des complexes ovocyte-cellules du cumulus pour croissance et développement en membrane d'alginate (iii) et maturation *in vitro* (MIV) des complexes cumulus ovocytaires (CCO). Le schéma proposé a permis d'observer la croissance de follicules primordiaux (b) en follicules secondaires (c) et en follicules à antrum (d) dans un milieu de culture sans sérum (adapté de Telfer et al. 2008).

Une autre étude, en utilisant une technique d'inclusion en capsule d'alginate (Fig. 16), a pu maintenir et faire croître *in vitro* des follicules secondaires isolés et au bout de 30 jours obtenir des follicules présentant des caractéristiques physiologiques et structurelles qui peuvent permettre la sélection d'ovocytes pour une maturation *in vitro* (Xu et al. 2009).

Les différentes études semblent indiquer ainsi que le développement folliculaire complet *in vitro* devrait se faire en trois phases : une première phase de culture *in situ* dans le cortex ovarien, de façon à mimer le recrutement et la croissance initiale de follicule primordial jusqu'au stade de follicule secondaire ; une deuxième phase de culture de follicules secondaires isolés jusqu'au stade de

follicules à antrum; et une troisième et dernière phase avec extraction du complexe cumulus-oophorus (CCO) en vue d'une maturation ovocytaire *in vitro*.

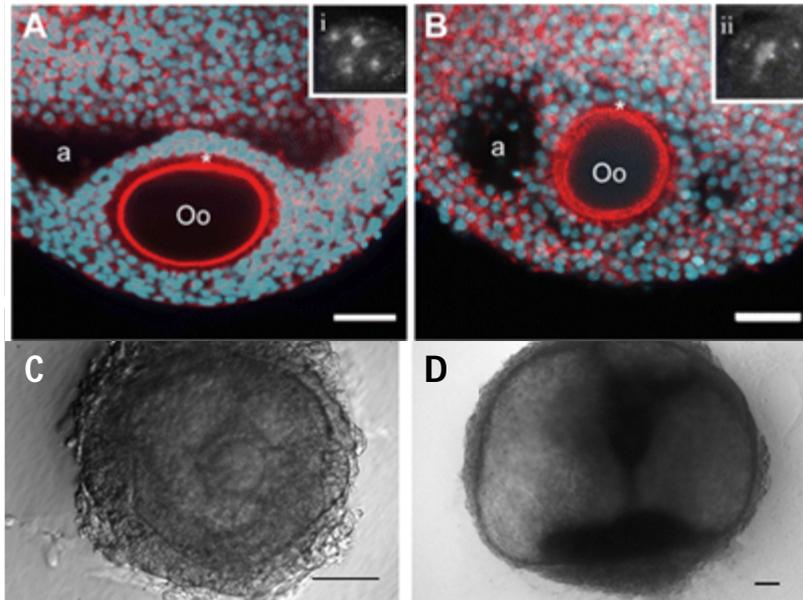


Figure 16 : Images du développement de follicules ovariens humains en capsule d'alginate (Xu et al. 2009). (A) un follicule humain sans culture en comparaison avec (B) un follicule de caractéristiques similaires après 14 jours de culture en capsule d'alginate. (C) follicule en culture depuis 15 jours avec formation d'un antrum et d'un CCO central et D) un follicule où le maintien de la structure 3D est bien visible. Barre d'échelle =100 μm

C. La protéomique

La protéomique est le terme générique qui englobe une large gamme de technologies visant à déterminer l'identité et la quantité des protéines exprimées dans une cellule, un organisme, un organe, un compartiment cellulaire ou un fluide biologique à un moment donné, dans un contexte biologique donné. Certaines méthodologies permettent également d'étudier leur structure tridimensionnelle et leurs interactions entre elles ou avec d'autres molécules. La protéomique est ainsi pour la protéine ce que la génomique est pour le gène et la transcriptomique pour l'ARNm (Fig. 17). L'ensemble des protéines qui résultent de la traduction des ARNm dans un échantillon à un moment donné est dénommé **protéome**.

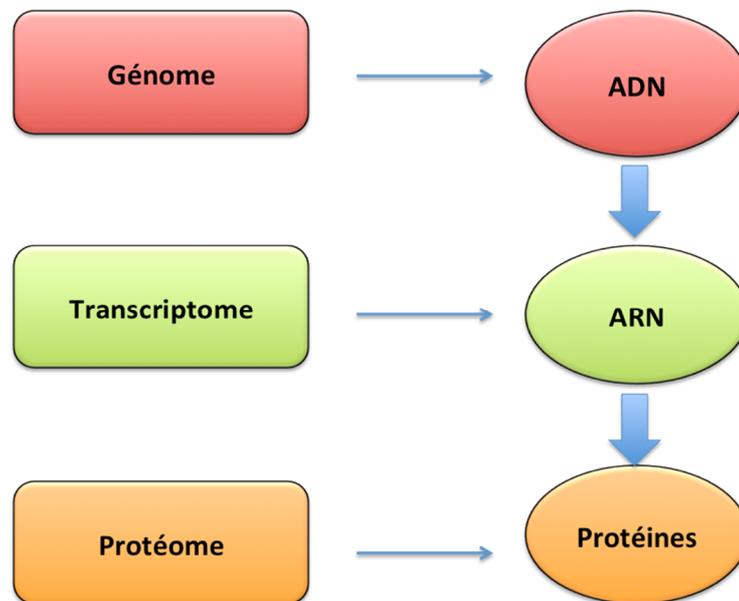


Figure 17 : Contexte biochimique du protéome.

Celui-ci présente des spécificités par rapport aux deux autres car les niveaux d'expression des protéines ne sont pas directement corrélés à celui des ARNm puisque certains ne sont jamais traduits. De plus, les protéines sont fréquemment soumises à des modifications post-traductionnelles qui changent aussi leur fonction. Ainsi un même gène peut coder plusieurs protéines rendant le protéome variable selon le stade de développement, le cycle cellulaire, la différenciation, en réponse à des signaux biologiques ou physiques, ou en réponse à l'environnement auquel sont soumis les échantillons. De cette façon il est possible de dire que la

protéine est la seule molécule qui produise un effet biologique en comparaison avec l'ADN et ARNm (Liebler 2002).

L'étude du protéome est un vrai challenge car celui-ci suppose une analyse simultanée d'un très grand nombre de protéines en vue de connaître leur structure, fonction, interaction, l'abondance et les variations de ces caractéristiques en fonction du contexte cellulaire. Même si l'étude des protéines présente des avantages par rapport au séquençage des gènes et des ARN, techniquement elle est aussi beaucoup plus difficile pour les raisons suivantes :

- Les protéines ne peuvent pas être amplifiées contrairement aux gènes et aux ARN. Les protéines peu abondantes sont donc difficiles à étudier.
- Les protéines sont des séquences de taille variable d'acides aminés. Il existe 20 acides aminés différents par leur composition moléculaire et leurs propriétés physico-chimiques, ce qui donne un nombre quasi-illimité de possibilités de séquences protéiques, et confère aux protéines une grande hétérogénéité.
- L'abondance d'une protéine dans un échantillon peut varier entre une et plusieurs millions de copies, ce qui exige une extrême sensibilité et une large gamme dynamique des techniques et appareils de détection.
- Le nombre total de protéines à analyser dans un même échantillon est très vaste et très variable.

1. Les grandes étapes d'une analyse protéomique

L'analyse protéomique ne serait alors pas possible sans le développement et les évolutions constantes des techniques séparatives comme l'électrophorèse bidimensionnelle, ou la chromatographie liquide, de la spectrométrie de masse et enfin de la bioinformatique qui permet de gérer la quantité énorme d'informations produite. Pour une analyse protéomique, quel que soit l'échantillon, plusieurs étapes doivent être réalisées :

- **Extraction**, cette étape consiste à extraire et à solubiliser les protéines d'un échantillon biologique ; elle est cruciale car une mauvaise extraction peut induire la dégradation voire la perte des protéines et même empêcher leur identification. Le tampon doit être adapté aux

conditions dans lesquelles on souhaite travailler (natives ou dénaturantes) et au type de protéines (solubles ou membranaires).

- **Préfractionnement**, étape optionnelle en fonction de l'abondance et de la complexité de l'extrait protéique. Elle consiste à fractionner un échantillon en plusieurs sous-ensembles afin d'accéder à un plus grand nombre de protéines et à réduire l'effet de saturation lié aux protéines les plus abondantes.
- **Séparation**, étape dans laquelle les protéines sont séparées en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques ou encore en fonction de leurs affinités pour un ligand. Il existe 2 grandes approches pour l'analyse d'extraits complexes : l'électrophorèse bidimensionnelle ou la chromatographie liquide (1D ou 2D) couplée à la spectrométrie de masse.
- **Identification des protéines par spectrométrie de masse (MS)** qui repose sur la mesure précise des biomolécules. Les protéines sont digérées dans un premier temps à l'aide d'une enzyme (classiquement la trypsine) puis les peptides issus de la digestion sont analysés en spectrométrie de masse et peuvent être fragmentés afin de déterminer leur séquence.
- **Analyse bioinformatique** est la dernière mais pas la moindre étape de l'analyse protéomique. Elle commence par l'interrogation des bases de données pour comparer les résultats obtenus avec la spectrométrie de masse et les données génomiques et protéomiques en ligne. C'est ainsi qu'une liste de protéines est obtenue. Une fois la liste établie, plusieurs outils informatiques permettent l'étude de ces listes, classant les protéines par famille, fonction, ou selon leurs interactions.

1. 1. Extraction

L'extraction de protéines à partir d'un mélange complexe se fait à l'aide de tampons adaptés à la nature des protéines et à l'objectif de l'analyse. En général, un tampon d'extraction est constitué de :

- **Un tampon salin** qui permet de contrôler le pH de la solution et aide à la solubilisation des protéines (ex. Tris, Hepes).

- **Détergents** qui aident à la solubilisation des protéines membranaires en particulier (ex. SDS, CHAPS).
- **Agents réducteurs** pour réduire les ponts disulfures et prévenir l'oxydation des protéines (ex. dithiothréitol (DTT), mercaptoethanol).
- **Agents dénaturants des protéines** qui altèrent la structure spatiale des protéines sans rupture des liaisons covalentes, en modifiant la concentration ionique de la solution et le pH (urée et acides).

Il n'existe pas de tampon universel pour l'extraction protéique, chaque tampon doit être adapté à l'échantillon et aux contraintes éventuelles de la méthodologie utilisée pour l'analyser. Dans le cadre d'une étude d'interactions protéiques, par exemple, les protéines doivent être maintenues dans des conditions natives, c'est-à-dire sans agent dénaturant ni agent réducteur, idéalement sans détergent, mais en présence de sels. En revanche, pour une approche par électrophorèse 2D, les protéines doivent être dénaturées mais conserver leur charge native. Cela implique d'utiliser des agents dénaturants mais aucun détergent ionique et une quantité minimale de sels. Le tampon peut également être complété par des inhibiteurs de protéases (pour éviter la dégradation des protéines) ou des ampholytes (qui aident à la séparation des protéines). Cependant il faut toujours tenir compte des étapes ultérieures, car l'utilisation de certains composants interfère soit avec la méthode de séparation des protéines, soit avec la digestion, soit avec la spectrométrie de masse.

Selon l'origine de l'échantillon, un broyage mécanique peut être réalisé après l'ajout du tampon d'extraction, pour faciliter l'éclatement des cellules. Une centrifugation sera nécessaire pour culotter les débris. Le surnageant, alors récupéré constitue l'**extrait protéique**.

1. 2. Préfractionnement

Le fait de fractionner l'extrait protéique est une étape essentielle lorsque l'échantillon est très complexe, comme c'est le cas avec un extrait cellulaire. Le préfractionnement a pour but la réduction de la complexité des échantillons. Ceci permet ainsi d'accéder à un plus grand nombre de protéines pour l'analyse protéomique car il y a une concentration des protéines moins abondante dans les fractions. Le fractionnement peut se faire par centrifugation différentielle, par élimination des protéines les plus abondantes, par électrophorèses et encore par

électrolocalisation. Ici je décrirais uniquement les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail de thèse.

1. 2. 1. Electrophorèse 1D

L'électrophorèse se base sur le principe de mobilité de molécules soumises à une charge électrique. Selon les caractéristiques des molécules telles que la charge et leur masse, la nature du support de migration et les conditions physico-chimiques la vitesse de migration varie, permettant ainsi la séparation des différentes molécules. Dans ce travail l'électrophorèse 1D SDS PAGE a été réalisée.

Dans cette approche, l'extrait protéique est dans une solution en présence d'un agent dénaturant – le SDS qui se lie aux protéines et leur confère, en proportion avec le poids moléculaire, une charge négative. L'extrait protéique est chargé sur un gel composé de polyacrylamide. Sous l'influence d'un courant électrique, les complexes SDS-protéines migrent dans le gel en fonction de leur poids moléculaire et se séparent en formant des bandes le long de la piste de migration (Fig. 18). Une bande peut contenir une ou plusieurs protéines ayant des masses moléculaires proches.

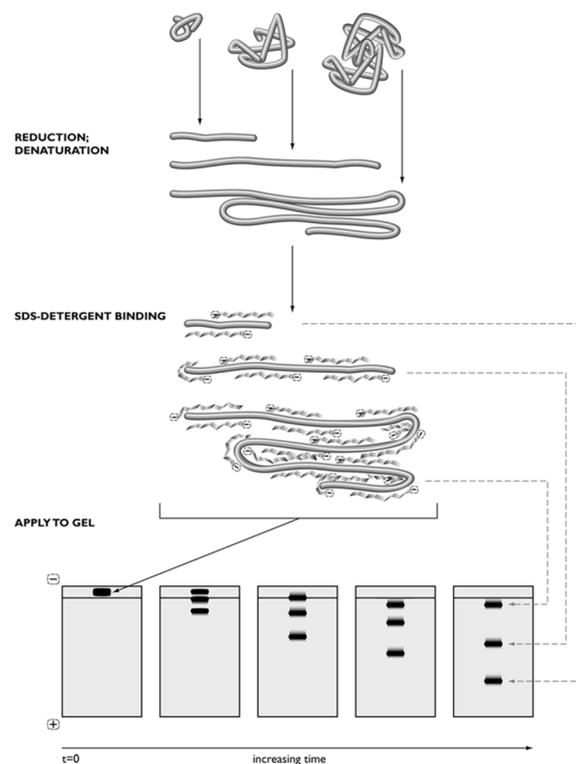


Figure 18 : Représentation du principe d'un gel 1D SDS-PAGE (Liebler 2002)

1. 2. 2. Électrofocalisation

Il s'agit de la séparation basée sur la focalisation isoélectrique, soit le point isoélectrique de la protéine, qui se fait sur une bandelette composé d'un gel de polyacrylamide à gradient de pH fixe – strip IPG. Dans cette approche les protéines migrent au long de la strip, qui est sous courant, jusqu'à atteindre l'endroit correspondant à leur point isoélectrique où elles restent immobilisées.

Cette électrolocalisation peut être également réalisée en phase liquide (OffGel). En phase liquide, des coupelles (en nombre voulu par rapport à la taille de la strip) sont superposé à la strip et la migration se fait par sortie et entrée dans les coupelles mais avec le même principe que in gel (Fig. 19). Cependant à la fin les protéines sont récupérées en phase liquide.

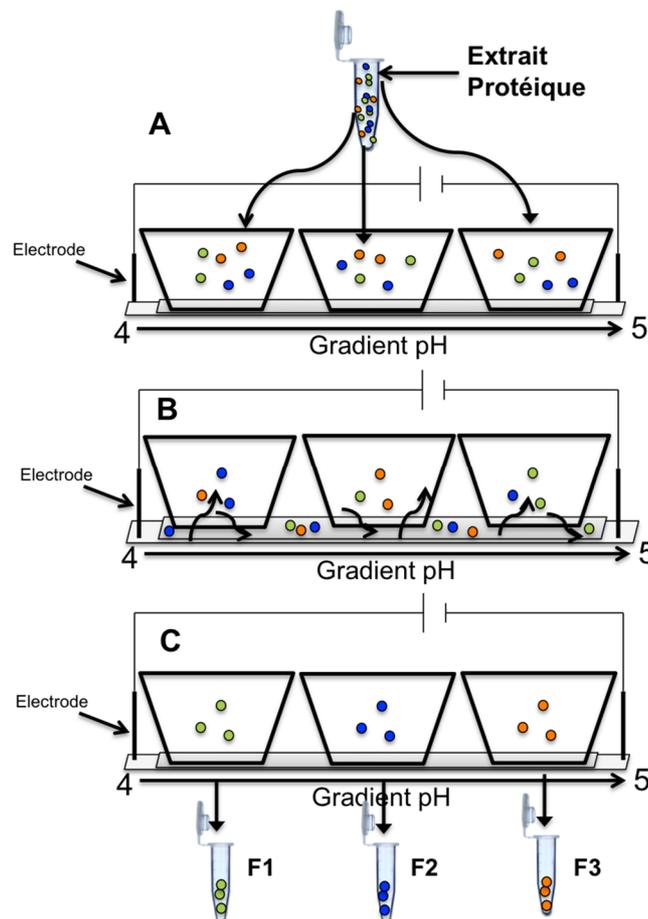


Figure 19 : Principe du fractionnement IEF OFFGEL. A) Dépôt d'un même volume d'extrait protéique dans les trois puits ; B) migration des protéines qui pénètrent dans la strip, migrent en fonction de leur charge native puis diffusent dans le puits correspondant à leur point isoélectrique ; C) Chaque fraction contient un pool de protéines dont le pI correspond à la zone de pH couverte par le puits sur la strip.

1. 3. Séparation

Cette étape précède normalement l'identification, et traditionnellement deux approches sont utilisées : l'électrophorèse bidimensionnelle et la chromatographie liquide

1. 3. 1. Electrophorèse bidimensionnelle (électrophorèse 2D)

L'électrophorèse 2D résulte de la combinaison de deux migrations électrophorétiques successives. Les protéines, dont la charge native doit être préservée au moment de l'extraction, sont d'abord séparées selon leur point isoélectrique (pI) selon le principe de l'électrofocalisation. Cette séparation s'effectue sur la strip contenant un gradient de pH pré-établi et fixe. Sous l'effet d'un courant électrique, les protéines migrent le long du gradient de pH et s'arrêtent à l'endroit où le pH est égal à leur point isoélectrique. La strip est ensuite incubée dans une solution de SDS puis déposée sur le haut d'un gel SDS-PAGE, pour une séparation selon leur masse. Dans ce type de gel les protéines sont visualisées sous forme de spots et une « carte protéique » est ainsi obtenue (Fig. 20).

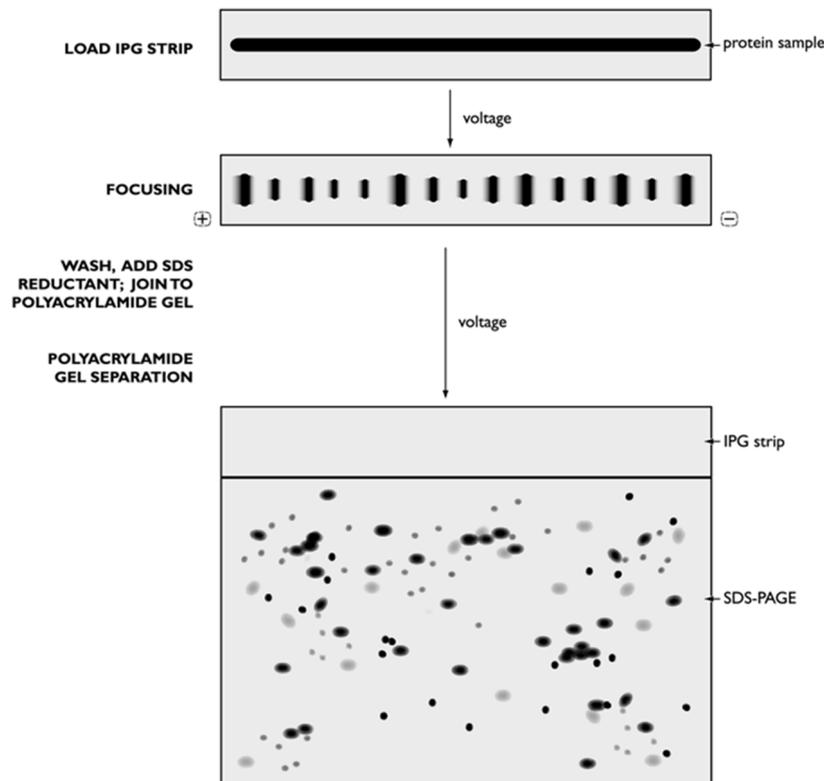


Figure 20 : Représentation du principe de séparation par de la 2D SDS-PAGE (Liebler 2002).

1. 3. 2. Chromatographie liquide

La chromatographie liquide a comme principe la séparation des composés entraînés par un liquide (phase mobile) à travers un solide (phase stationnaire) qui lui, est normalement fixé à une colonne appelé colonne chromatographique. La séparation se réalise selon les interactions chimiques ou physiques des molécules avec la phase mobile ainsi qu'avec la phase stationnaire. Cette séparation peut se faire avec une colonne chromatographique c'est à dire 1D ou ayant recours à deux colonnes chromatographiques séquentielles – 2D.

1. 4. Identification des protéines par spectrométrie de masse

Il existe deux approches différentes pour identifier une protéine digérée par spectrométrie de masse. La première ne peut être utilisée que pour une protéine purifiée (par exemple un spot de gel 2D). Il s'agit de la méthode d'identification par empreinte peptidique de masse, la masse des peptides obtenus après digestion d'une protéine est comparée aux masses théoriques des peptides des protéines répertoriées dans les banques de données. Quand les échantillons sont complexes, la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) est utilisée. Dans ce cas, une première analyse MS permet de mesurer la masse du peptide qui est ensuite isolé et fragmenté. Une deuxième analyse MS des fragments obtenus permet de déterminer la séquence peptidique : en effet, chaque acide aminé de la séquence peut être déterminé en calculant la distance entre deux pics adjacents.

Pour l'étape d'identification, les protéines sont digérées dans un premier temps en peptides à l'aide d'enzymes spécifiques. L'enzyme utilisée le plus classiquement est la trypsine qui clive après chaque acide aminé de type lysine ou arginine.

Les peptides issus de la digestion sont ensuite analysés par spectrométrie de masse qui se base sur la mesure du rapport masse sur charge (m/z) des peptides ionisés à l'état gazeux. Le spectromètre de masse est normalement composé de trois éléments : **une source d'ions**, **un analyseur de masse** et un **système de détection des ions** (Fig. 21).

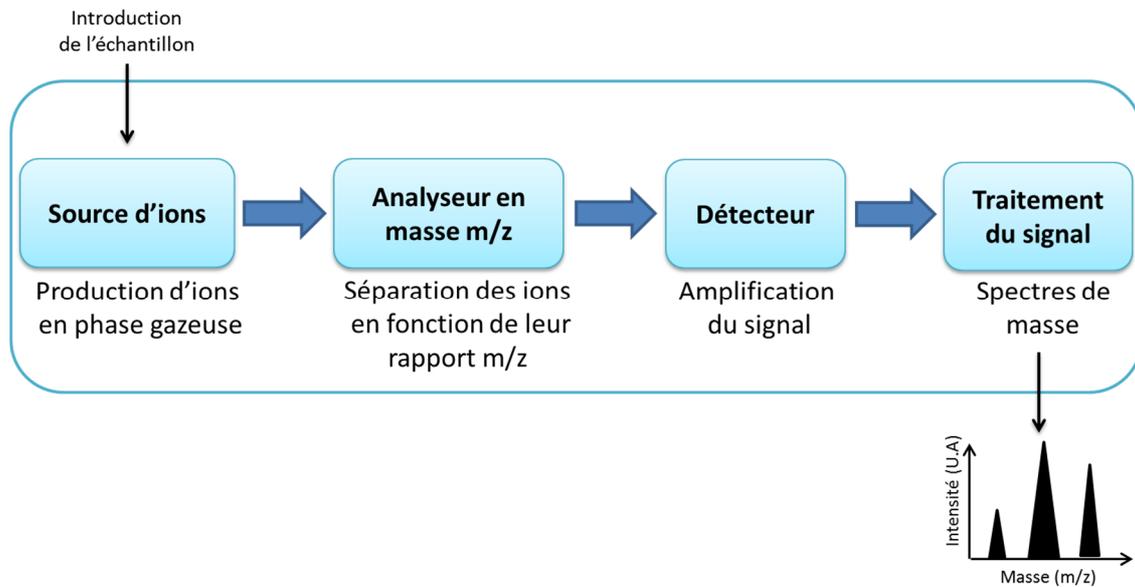


Figure 21 : Structure de base d'un spectromètre de masse.

Couramment, il existe 2 types de sources d'ions :

- la source **MALDI** (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation) où la formation d'ions se fait par excitation d'un dépôt séché constitué à la base d'un mélange d'une solution de matrice et de l'analyte (Fig. 22)

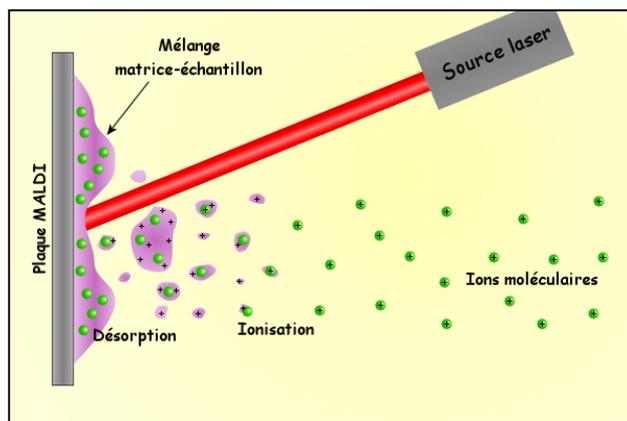


Figure 22 : La source MALDI ionise, sous l'effet d'un laser, des analytes en phase solide qui sont co-cristallisés avec une matrice sensible à la longueur d'onde du laser. Cette source génère des ions majoritairement monochargés ($z=1$) (image repris de <http://fr.academic.ru/dic.nsf/frwiki/1094130>).

- la source **ESI** (ElectroSpray Ionisation) où les ions sont formés par électro-nébulisation de l'analyte en solution (Fig. 23).

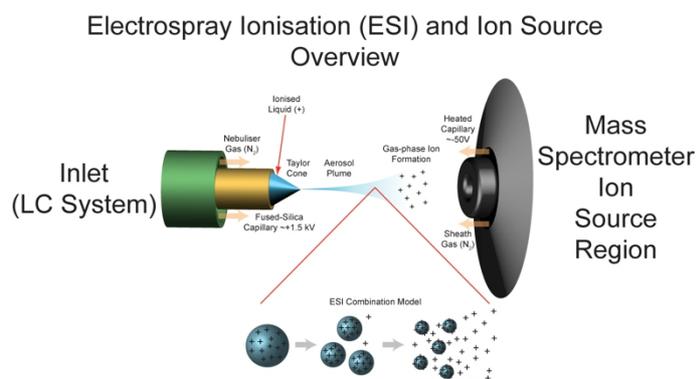


Figure 23 : Source ElectroSpray (ESI) génère des ions à l'état gazeux à partir d'un échantillon liquide grâce à un spray d'électro-nébulisation. Elle produit des ions principalement multichargés (image reprise de <http://www.lamondlab.com>).

Il existe 4 types d'analyseurs : **temps de vol**, **trappe à ions**, **quadrupoles** et **analyseurs à résonance cyclotronique**. Dans ce travail de thèse c'est l'analyseur à trappe ionique qui a été utilisé.

- L'analyseur de type **trappe ionique** piège les peptides dans un champ électrique tridimensionnel. Une variation graduelle tridimensionnelle du champ électrique va progressivement expulser les peptides piégés, du plus léger au plus lourd. La valeur du champ électrique au moment de l'expulsion d'un peptide donné permet d'en déterminer la masse exacte.

Une deuxième dimension peut être ajoutée en spectrométrie de masse mettant en tandem l'analyseur (MS/MS). Ainsi dans une première séparation dans l'analyseur des ions sont sélectionnés et fragmentés et puis séparés à nouveau selon leur rapport m/z .

Les sources ESI sont en général couplées à un système de séparation de peptides par chromatographie liquide haute performance (HPLC) sur des colonnes capillaires (nanoLC) pour l'analyse de très faibles quantités.

1. 5. Analyse bioinformatique

Quelles que soient les méthodes utilisées, toute analyse protéomique par spectrométrie de masse a besoin d'outils informatiques puissants pour analyser et valider les données. Ainsi les bases de données telles que SwissProt et trEMBL utilisées pour l'identification des protéines sont consultées via des logiciels dédiés tels que MASCOT, Sequest, XTandem, etc. Ces logiciels comparent les masses des peptides obtenues avec les masses théoriques des peptides présents dans les bases de données. D'autres outils sont également *a posteriori* nécessaires pour approfondir l'étude des informations obtenues, comme la classification des protéines selon leur fonction biologique et/ou moléculaire, selon leurs interactions entre elles ou avec d'autres molécules et leur rôle dans les voies de signalisation entre autres. Ceci est possible grâce à des logiciels qui compilent toutes les informations publiées sur chaque protéine et qui croisent ces informations de façon à relier certaines protéines entre elles. Les différents logiciels utilisés dans ce travail sont décrits dans le chapitre matériels et méthodes.

2. La protéomique appliquée à la biologie de la reproduction

Dans le domaine de la santé, la protéomique s'est rapidement imposée comme un outil puissant principalement dans la mise en évidence de marqueurs diagnostiques ou pronostiques de maladies comme le cancer du sein, de la prostate et la maladie d'Alzheimer. Le domaine de la biologie de la reproduction ne fait pas exception et l'utilisation de cette approche a permis d'élargir la connaissance des événements moléculaires des fonctions reproductrices chez l'homme et chez la femme avec l'analyse d'expression, de régulation et de modifications des protéines dans plusieurs types cellulaires, tissus et organes. Ainsi, au cours des dernières années, les principaux travaux de protéomique ont été réalisés, chez le male, sur les testicules, la maturation epididymaire des spermatozoides, les fluides séminaux et le développement du spermatozoïde, et chez la femelle, sur l'endomètre, l'endométriose, le syndrome des ovaires polykystiques, la maturation ovocytaire et le liquide folliculaire, mais aussi sur la fécondation, l'interaction gamétique et le développement embryonnaire initial (Upadhyay et al. 2013).

2. 1. L'étude protéomique dans la reproduction féminine

En biologie de la reproduction, pour le côté féminin, les études de protéomiques ont comme but essentiel :

- l'évaluation de la qualité ovocytaire et en conséquence sa capacité à reprendre la méiose ainsi que l'identification des protéines impliquées dans le développement initial de l'embryon
- l'étude de pathologies qui affectent la fertilité telles que l'endométriose et le syndrome des ovaires polykystiques
- l'étude de l'endomètre pour essayer de mettre en évidence des marqueurs sur la qualité de l'endomètre pour l'implantation.

Pendant les cinq dernières années, les études sur l'endomètre, chez la femme, ont permis de mettre en évidence des protéines différemment exprimées selon la phase du cycle menstruel, l'identification de protéines surexprimées pendant la fenêtre implantatoire et de protéines non connues auparavant pour leur régulation par les stéroïdes (Chen et al. 2009, DeSouza et al. 2005, Dominguez et al. 2009, Parmar et al. 2009, Rai et al. 2010). Ces résultats pourront ainsi permettre l'identification et l'analyse des protéines ayant un rôle potentiel dans la

capacité de l'endomètre à accueillir les embryons, ce qui peut aider à optimiser la préparation de l'endomètre en vue des transferts d'embryons et peut être même aider en cas d'échec d'implantation lors des cycles de FIV.

Plusieurs études ont effectué des analyses protéomiques pour comparer les endomètres ectopiques de femmes atteintes d'endométriose à des endomètres normaux révélant des protéines qui présentaient des expressions différentes selon la présence ou l'absence de la pathologie (Chehna-Patel et al. 2011, Fowler et al. 2007, Scotchie et al. 2009, Ten Have et al. 2007, Zhang et al. 2006).

En ce qui concerne l'ovaire, le plus souvent les études visent à mieux connaître le syndrome des ovaires polykystiques. Cependant, dans un premier temps, c'est l'ovaire sain qui a été étudié, et récemment une grande étude sur le protéome de l'ovaire du Macaque Rhésus a permis l'identification de plus de 5 000 protéines constituant ainsi le plus grand protéome décrit pour l'ovaire (He et al. 2014). Dans cette étude le cycle cellulaire, la régulation de la mort cellulaire et de l'apoptose ainsi que l'organisation du cytosquelette étaient les processus biologiques les plus représentés en terme de nombre de protéines. Parmi les protéines identifiées, 48 avaient été antérieurement décrites comme ayant une expression variable entre les ovaires polykystiques et les ovaires normaux chez l'humain (Ma et al. 2007) établissant ainsi une liste de protéines qui devront faire l'objet d'études plus approfondies pour comprendre leur rôle exact dans la pathologie et ainsi parvenir à faire évoluer le diagnostic et le traitement du syndrome des ovaires polykystiques.

Le liquide folliculaire, par son origine et sa proximité avec l'ovocyte en croissance est aussi un important sujet d'études protéomiques pour en déduire la qualité folliculo-ovocytaire. Chez l'humain, la publication la plus récente, décrit l'identification de 480 protéines dont 320 jamais décrites dans le liquide folliculaire, et ce après avoir exclu les 14 protéines les plus abondantes déjà décrites antérieurement (Ambekar et al. 2013). Cela a permis d'élargir le nombre de protéines connues et présentes dans le liquide folliculaire. Ceci pourrait aider à mieux connaître sa fonction, aider au développement de marqueurs de qualité ovocytaire et ainsi augmenter les taux de grossesse et aider à la recherche des causes d'infertilité dans le futur (Ambekar et al. 2013).

2. 2. L'étude de l'ovocyte – approche protéomique

L'ovocyte du fait de son importance, de sa rareté et de la difficulté à en obtenir est une cellule difficilement analysable chez l'humain. En protéomique cela est d'autant plus important car les quantités d'échantillon nécessaires aux analyses impliquent un très grand nombre d'ovocytes. En conséquence les études protéomiques sur l'ovocyte sont souvent réalisées dans des modèles animaux et particulièrement chez la souris.

C'est au début de la dernière décennie que les premières études protéomiques ont été rapportées avec l'identification de protéines de l'ovocyte mature de souris, dans le but d'identifier les protéines de surface impliquées dans l'interaction entre le spermatozoïde et l'ovocyte lors de la fécondation. Après une électrophorèse 2D, environ 500 spots protéiques ont été mis en évidence. Entre ceux-ci, 80 protéines potentielles de surface ont été repérées après l'analyse avec un gel d'affinité et 30 ont été identifiées après analyse au spectromètre de masse (Coonrod et al. 2002). La même équipe a publié plus tard l'identification de 8 protéines chaperonnes très abondantes dans l'ovocyte mature avec la confirmation par immunofluorescence de leur localisation à la surface de l'ovocyte pour 4 d'entre elles, à savoir GRP78, GRP94, HSP90 et Calreticulin (Calvert et al. 2003).

Depuis ce sont surtout des études concernant la maturation ovocytaire et la recherche de protéines associées au développement initial de l'embryon qui ont été décrites avec l'établissement du protéome de l'ovocyte au stade VG et MII.

En 2007, une étude de l'équipe de Coonrod a comparé les cartes protéiques d'ovocytes en fin de croissance avant et après la reprise de la méiose, après séparation en gel 2D. Cette première étude sur la maturation ovocytaire a permis d'identifier 12 protéines qui varient entre les stades de VG et de MII (Vitale et al. 2007). La même année un profil protéique du complexe cumulus-ovocytaire a été décrit toujours après séparation des protéines par gel 2D. Dans cette étude les auteurs décrivent l'identification de 156 protéines et leur classification dans les différentes fonctions biologiques : 31 % des protéines sont impliquées dans l'expression des gènes/protéines, 24 % dans le métabolisme cellulaire, 12 % dans la défense cellulaire, encore 12 % dans la communication et signalisation cellulaire, 10 % dans la structure et mobilité cellulaire et finalement 7 % dans la division cellulaire et 4 % dans des processus non connus. Cette étude a également mis en évidence plusieurs familles de protéines pouvant jouer un rôle important dans le développement folliculaire. Ainsi l'identification de 9 hnRNPs (heterogeneous nuclear ribonucleo proteins) impliquées dans la synthèse et le transport des ARNm

a été rapportée, tout comme 9 enzymes impliquées dans la glycolyse, 4 peroxyredoxines, 10 protéines chaperonnes et 7 protéines de la famille TCP-1 (T-complex protein 1) (Meng et al. 2007). Cette étude est, à notre connaissance, la seule chez la souris à ne pas avoir été effectuée avec des ovocytes isolés, mais avec des CCO, s'intéressant ainsi aux cellules qui entourent l'ovocyte lors de la maturation.

En 2008, une équipe a étudié le protéome et le phosphoprotéome de l'ovocyte en MII sans la ZP, dans le but d'analyser les modifications post-traductionnelles et en particulier les phosphorylations. Ayant toujours recours à l'électrophorèse 2D et la spectrométrie de masse, cette équipe a identifié 380 protéines parmi lesquelles 53 présentaient des modifications post-traductionnelles (PTM) révélées par la coloration Pro-Q Diamond (qui détecte spécifiquement les protéines phosphorylées) démontrant pour la première fois la présence de protéines PTM dans l'ovocyte mature. Les fonctions biologiques avec le plus de protéines identifiées étaient associées au métabolisme et à la régulation des protéines : métabolisme des protéines (101) protéines de liaisons (100) et repliement des protéines (34), tandis que l'activité des enzymes tels que les protéasomes et les actetyltransferases n'avaient que 9 et 3 protéines attribuées respectivement. Avec cette étude le protéome de l'ovocyte mature a été élargi et la présence de protéines phosphorylées dans l'ovocyte mature a été prouvée (Ma et al. 2008). Une année plus tard, en 2009, la même équipe publiait l'identification des protéines de l'ovocyte en MII sans ZP, mais cette fois en ayant recours à une séparation des protéines avec un gel 1D SDS-PAGE et une analyse par spectrométrie de masse après fractionnement en chromatographie inversé (RP-LC-MS/MS). Avec cette approche 625 protéines ont été identifiées élargissant ainsi le panel des protéines décrites dans l'ovocyte mature. De plus, ils ont mis en évidence 76 protéines impliquées dans le développement embryonnaire. Leur analyse a démontré une surreprésentation significative des protéines impliquées dans des fonctions moléculaires telles que « unfolded protein binding », l'activité oxydoréductase, l'action sur les groupes CH-OH et l'activité des GTPases et aucune sous représentation. Pour les fonctions biologiques, le scénario s'est inversé avec une sous représentation significative dans l'ovocyte mature, par rapport à d'autres tissus, de protéines impliquées dans la régulation du métabolisme cellulaire, la transcription et le métabolisme de l'ARN, tandis qu'aucune fonction biologique n'était significativement surreprésentée. De plus dans cette étude, une analyse semi-quantitative par rapport au nombre de

peptides uniques identifiés pour une protéine a été réalisée montrant 23 protéines avec plus de 10 peptides uniques identifiés (Zhang et al. 2009).

En 2010, une grande étude a été établie et comparé le protéome d'ovocytes de souris aux stades VG et MII, avec 7 000 ovocytes à chaque stade ainsi que 7 000 zygotes en utilisant une analyse MS semi-quantitative. Au stade MII 2 973 protéines ont été identifiées, 2 781 au stade VG et 2 082 au stade zygotes. Les auteurs ont comparé le protéome des ovocytes VG et avec celui des ovocytes MII et le protéome des zygotes avec celui des cellules souches embryonnaires (ES). La distribution des protéines dans les différents groupes par fonctions biologiques était similaire, alors qu'une comparaison quantitative par rapport au nombre de peptides identifiés pour chaque protéine a été réalisée montrant que les ovocytes VG et MII avait plus de protéines en communs que les zygotes et les cellules ES. Les protéines de la famille TUDOR ont été identifiées seulement dans les ovocytes et les protéines de la famille F-box étaient aussi surexprimées dans les ovocytes. Au stade VG, les protéines associées au transport membranaire, les transporteurs primaires, les protéines de la famille des canaux cationiques et les jonctions de type gap étaient surexprimées, tandis qu'au stade de MII, les protéines surexprimées étaient les protéines associées aux facteurs de transcription, aux modifications épigénétiques, et au métabolisme de l'ADN (Wang et al. 2010).

Le plus récent et le plus grand protéome établi pour l'ovocyte mature a identifié plus de 3 699 groupes de protéines combinant les 29 fractions d'un gel 1D SDS-PAGE et l'analyse MS. De ces groupes de protéines, 2 842 ont pu être corrélées au transcriptome de souris analysé par microarray. Pour les groupes restant aucun ARN correspondant n'a été trouvé et 125 protéines n'avait même pas d'identifiant. Les fonctions biologiques les plus présentes étaient les processus métaboliques, les processus cellulaires, le transport et la communication cellulaire. Cette étude a aussi permis l'identification de 28 protéines probablement impliquées dans la reprogrammation lors du développement embryonnaire (Pfeiffer et al. 2011).

Même si dans cette introduction je résume seulement les principaux travaux menés chez la souris pour la constitution du protéome de l'ovocyte en fin de croissance aux stades VG et MII, des études similaires ont été menées chez d'autres espèces en particulier celles ayant un intérêt industriel/économique comme par exemple le bovin (Berendt et al. 2009, Bhojwani et al. 2006, Memili et al. 2007, Peddinti et al. 2010).

Cependant toutes ces études sont faites sur l'ovocyte en fin de croissance, isolé, soit mature bloqué en métaphase II (MII) ou toujours bloqué en fin de

prophase I (VG), et décrivent les protéines impliquées au moment de la maturation et reprise de la méiose. Peu d'articles se sont intéressés aux cellules du CCO, mais encore une fois ceux-ci visaient l'étude moléculaire de la maturation ovocytaire. A notre connaissance, aucun article n'a décrit le protéome de l'ovocyte au cours de sa croissance, au sein du follicule ovarien, tout en sachant que la croissance ovocytaire et folliculaire sont inséparables. Ainsi cette structure fonctionnelle si particulière, par la dépendance des différents types cellulaires qui la composent, semble extrêmement importante à étudier.

II. Objectifs de la Thèse

Les études protéomiques dans le domaine de la gamétogenèse femelle faites jusque-là visent essentiellement l'étude des protéines impliquées dans la maturation ovocytaire et/ou le début du développement embryonnaire.

Au long de toute sa croissance l'ovocyte fait partie d'une structure fonctionnelle – le follicule - duquel il dépend pour croître et inversement. Même si beaucoup d'évènements de la folliculogenèse et de l'ovogenèse ont déjà été décrits, il reste encore beaucoup de connaissances à acquérir. Puisque l'ovocyte acquiert sa capacité à reprendre la méiose et ainsi à être fécondable au cours de sa croissance au sein du follicule, il semble important d'essayer de mieux connaître les molécules nécessaires au développement ovocytaire et folliculaire.

Ainsi l'approche protéomique des follicules en culture semble être pertinente puisque celle-ci peut donner des informations qui permettront de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués au cours de leur croissance et de développer des marqueurs de qualité pendant la culture. En biologie de la reproduction ceci est d'autant plus important que dans le cadre de la préservation de fertilité certaines femmes ne peuvent pas bénéficier d'une greffe de leur fragment d'ovaire en raison d'un risque de réintroduction de la maladie de départ. Il est donc important d'améliorer et faire évoluer les techniques de culture folliculaire pour qu'elles soient une réalité pour ces femmes.

Puisque la souris est la seule espèce pour laquelle des souriceaux sont nés après développement *in vitro* de follicules ovariens et que pour les analyses protéomiques une importante quantité d'échantillon est nécessaire, celle-ci a été choisie comme modèle d'étude.

Ainsi ayant recours à une approche protéomique, l'objectif de mon travail de thèse a consisté à :

Identifier les protéines exprimées dans trois stades de développement folliculaire *in vitro* de façon à mettre en évidence des protéines spécifiques et des changements moléculaires caractéristiques des différents stades de développement. Puis, la distribution des fonctions biologiques, la quantification des protéines et la recherche de réseaux spécifiques d'interaction des protéines identifiées seront comparées entre les trois stades du développement folliculaire étudiés.

III. Matériels et méthodes

Le protéome du follicule ovarien n'ayant jamais été décrit, plusieurs étapes du protocole ont du être testées avant l'analyse protéomique, ce qui est le cas pour le milieu de culture, le choix d'étudier le follicule entier et les deux méthodes de préfractionnement. Ainsi dans cette partie de « matériels et méthodes » quelques résultats concernant ces mises au point seront décrits.

A. Culture de follicules ovariens de souris

1. Animaux

Des souris femelles de 12 jours F1 C57BI/CBA ont été utilisées. A cet âge, la population folliculaire est très homogène et est majoritairement composée de follicules secondaires.

Les souriceaux à cet âge ne sont pas encore sevrés, ils ont donc été achetés en portée avec leur mère (Charles River®, Lyon, France) et ont été élevés en animalerie avec des cycles de lumière/obscurité de 12h avec un libre accès à l'eau et à la nourriture, pendant une semaine au moins avant sacrifice.

2. Prélèvement des ovaires et isolement des follicules

Les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale et les ovaires ont été recueillis dans un milieu de dissection à 37°C, composé de Leibovitz L 15(Gibco®, Cergy-Pontoise, France) supplémenté avec 10 % de sérum de veau foetal (SVF), 100 UI/mL pénicilline et 100 µg/mL de streptomycine (Sigma – Aldrich®, Saint Quentin Fallavier, France).

Sous loupe binoculaire (Nikon®, France), les ovaires ont été libérés de leur bourse à l'aide d'aiguilles de 27 gauges (Sherwood Médical®, Evry, France). Les follicules ont été isolés en dissociant et grattant le stroma à l'aide d'aiguilles, puis ont été recueillis avec une micropipette et rincés 3 fois dans le milieu de dissection. Pendant les lavages successifs, les follicules constitués d'un ovocyte rond et central, entouré d'au moins 2 couches de cellules de la granulosa, avec un diamètre compris entre 100 µm et 130 µm et ayant quelques cellules de la thèque adhérentes ont été sélectionnés pour être soit analysés directement soit mis en culture.

3. Culture folliculaire

Dans ce travail un système de culture en microgouttes recouvertes d'huile minérale (Sigma – Aldrich®) a été utilisé. Ce type de culture est le plus couramment utilisé pour l'étude de la croissance folliculaire *in vitro*, chez la souris, y compris par notre équipe depuis plusieurs années (Anastacio et al. 2012, Dorphin et al. 2012, Kerjean et al. 2003, Lefevre et al. 2007, Mousset-Simeon et al. 2005, Pesty et al. 2007, Pesty et al. 2008).

Dans ce système de culture, dix follicules ont été mis individuellement en gouttes de 10 μ L de milieu, dans des boîtes de pétri stériles de 60 mm de diamètre (Falcon®, Meylan, France), recouvertes d'huile minérale (Sigma®) (Fig. 24). Le lendemain de la mise en culture, 10 μ L de milieu de culture ont été ajoutés à chaque goutte. Le milieu a ensuite été renouvelé quotidiennement en retirant 10 μ L de chaque goutte et en y ajoutant 10 μ L de milieu neuf.

Le jour de la mise en culture (J0) ainsi que tous les jours suivants (J1 – J12) les follicules ont été mesurés, au microscope inversé (10x15) (Nikon®) en prenant deux diamètres perpendiculaires à l'aide d'un oculomètre.

Pendant les douze jours de culture, les boîtes ont été placées dans un incubateur, à la température de 37°C et sous une atmosphère humide à 5 % de CO₂.

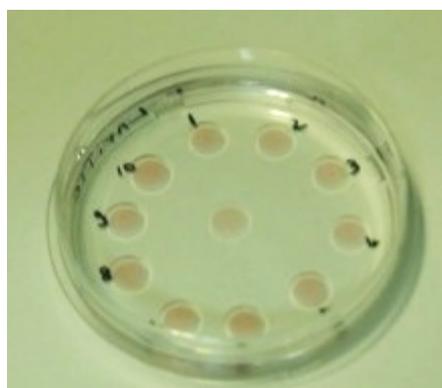


Figure 24 : Boîte de culture folliculaire

4. Maturation ovocytaire

Pour l'induction de l'ovulation les follicules sont transférés dans des nouvelles boîtes de culture avec des microgouttes de 20 μ L de milieu de maturation, qui est le milieu de culture enrichi avec de l'hCG (Sigma-Aldrich®) et EGF (Boehringer Mannheim®, Meylan, France) (Tableau II). Les boîtes étaient remises sous atmosphère humide à 5 % de CO₂ et à 37°C. Au bout de 16 heures environ, la

maturation des ovocytes était vérifiée après dénudation des ovocytes et observation de l'expulsion du premier globule polaire (Fig. 25).

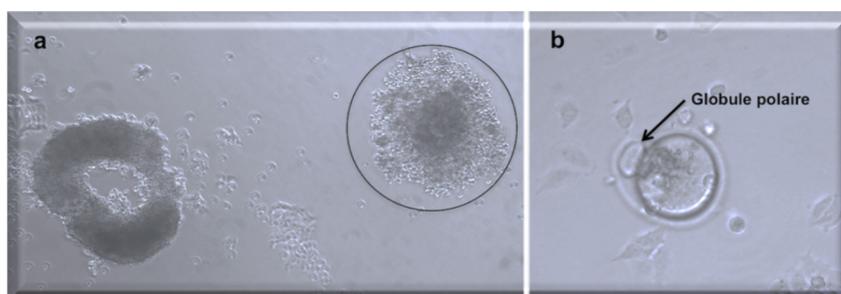


Figure 25 : Ovulation *in vitro* après induction avec hCG (a), à l'intérieur du cercle le CCO et à l'opposé les cellules de la granulosa; b) ovocyte mature avec expulsion du premier globule polaire.

5. Stades folliculaires étudiés

Pour cette étude, dont le but principal était l'obtention du protéome du follicule entier pendant son développement *in vitro*, il a été décidé de choisir les trois groupes à différents stades de la culture, basés sur des caractéristiques morphologiques plutôt que sur la durée de culture car à un même jour de culture les caractéristiques des follicules peuvent être très différentes les unes des autres. En se basant sur des caractéristiques morphologiques spécifiques les trois groupes étudiés ont été beaucoup plus homogènes. En conséquence, il a été décidé d'étudier le follicule au stade initial de la culture (IS), à un stade intermédiaire de la culture (RMS) et à la fin de la culture (FA).

5. 1. Stade initial (IS)

Constituant notre premier groupe d'étude, le stade initial (IS) est composé de follicules secondaires obtenus au moment de la dissection de l'ovaire. Ceux-ci sont caractérisés par un ovocyte entouré par au moins 2 couches de cellules de la granulosa, quelques cellules de la thèque adhérentes et un diamètre compris entre 100 μm et 130 μm (Fig. 26IS). Le choix de ce type de follicule comme un des groupes étudiés a été lié au fait que celui-ci est le type de follicule utilisé pour débiter la culture.

5. 2. Rupture complète de la membrane de Slavjanski (RMS)

Ce deuxième groupe d'étude était composé de follicules en culture et avait pour but de cibler une étape intermédiaire dans la culture. A ce stade folliculaire, il a été observé une importante prolifération des cellules de la granulosa, qui associée à l'adhésion au support de culture mène à la rupture de la membrane basale. Le choix de ce type de follicule pour le deuxième groupe a été fait car la rupture de la membrane de Slavjanski, à ce stade, est caractéristique de la croissance *in vitro* et est un indicateur de la croissance folliculaire puisqu'il est associé à la prolifération des cellules de granulosa (Fig. 26RMS).

5. 3. Follicules avec une cavité antrum like (FA)

Le troisième et dernier groupe étudié était composé de follicules en fin de culture (J12) et dans lesquels était observée la présence d'un espace entre les couches de cellules de la granulosa assimilé à l'antrum (Fig. 26FA). Ces follicules en culture sont équivalents aux follicules pré-ovulatoires *in vivo*. On observe, également différents secteurs dans la répartition des cellules de la granulosa avec localisation proche de l'ovocyte, le *cumulus oophorus* et une autre plus extérieure, la granulosa murale. De plus, ces follicules ont été choisis pour la maturation ovocytaire, car ce sont les follicules qui contiennent les ovocytes capables de reprendre leur méiose.

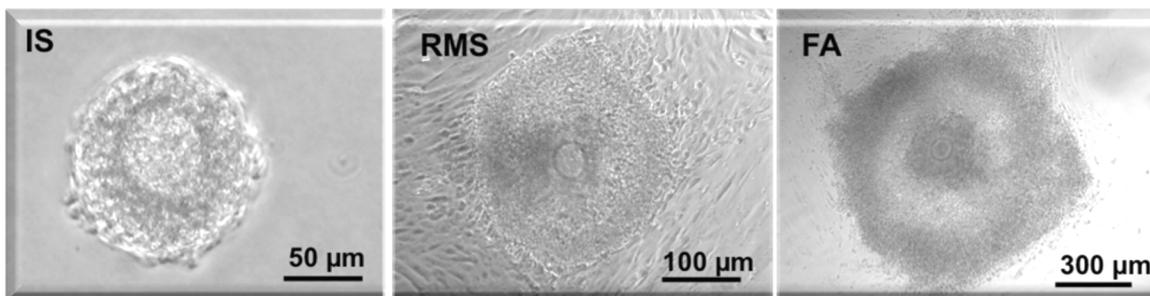


Figure 26 : Différents stades de développement choisis pour l'étude du protéome des follicules au cours de la culture folliculaire : IS (follicule en début de culture), RMS (follicule présentant une rupture complète de la membrane de Slavjanski) et FA (follicule avec une cavité similaire à l'antrum).

6. Choix d'étudier le follicule entier

Pour mieux comprendre le rôle et l'évolution des protéines dans la structure folliculaire, l'idée était dans un premier temps de caractériser le protéome dans chacun des types cellulaires qui compose le follicule.

6. 1. Séparation des différents types cellulaires

Etant donné que l'utilisation d'enzymes pourrait nuire à l'intégrité des différents types cellulaires qui composent le follicule et que la distinction des cellules de la granulosa et de la thèque serait très difficile sans avoir recours à des méthodes demandant des quantités trop importantes d'échantillon (ex : centrifugation différentielle), une séparation mécanique de l'ovocyte et des cellules folliculaires qui l'entoure a été testée.

Au stade IS, une première dissection à l'aide de fines aiguilles était réalisée, suivie de pipetages successifs avec un cône de 10 μ L, puis avec un stripper (Stripper®, Limonest, France) muni d'un capillaire avec un embout de 125 μ m de diamètre pour retirer les cellules qui étaient en contact direct avec l'ovocyte.

Au stade RMS et AF les cellules folliculaires étalées dans le support de culture ont été d'abord recueillies en raclant le support avec un cône et les cellules restantes accrochées à l'ovocyte ont été séparées par pipetages successifs au stripper et/ou avec un embout jetable de pipette.

Néanmoins, l'isolement mécanique des ovocytes, aux différents stades s'est avéré très laborieux et pas satisfaisant. En effet, à aucun stade une dénudation complète de l'ovocyte n'a été obtenue avec les méthodes utilisées et le temps pris pour le réaliser était trop important pour valider cette technique. De plus au stade IS, la dissection à l'aiguille pour séparer les cellules folliculaires de l'ovocyte a provoqué la lésion de plusieurs ovocytes.

Ainsi j'ai décidé d'effectuer l'analyse protéomique sur les follicules entiers pour les trois stades pour établir le protéome et ainsi étudier les changements moléculaires de la structure fonctionnelle qu'est le follicule.

7. Comparaison des milieux de culture

Avec ce type de culture en microgouttes le milieu de culture le plus couramment utilisé est enrichi avec 5 % de SVF (Cortvrindt et al. 1996, Hirao 2011). Cependant, l'ajout de sérum dans le milieu de culture de follicules

secondaires n'est pas indispensable. Il a été décrit que des ovocytes issus de follicules développés *in vitro* en absence de sérum, étaient capables de reprendre leur méiose, être fécondés et se développer jusqu'au stade de blastocyste (Hirao 2011). De plus le sérum a une composition protéique complexe et pas entièrement connue, qui pourrait être gênante dans l'analyse protéomique en masquant les protéines les moins abondantes de notre échantillon.

Ainsi dans un premier temps un changement de milieu a été effectué en remplaçant le sérum par de l'albumine purifiée (Sigma-Aldrich®), qui lors de l'analyse protéomique pourrait être facilement identifiée. D'autre part, une concentration plus faible de SVF a été testée : 1 % au lieu des 5 % habituels. La composition de ces trois milieux est décrite dans le tableau II.

Les courbes de croissance, le taux de survie et le taux de maturation ainsi que plusieurs critères morphologiques, tels que l'adhésion au support, la rupture de la membrane de Slavjanski, l'extrusion ovocytaire (EO) au cours de la culture et la formation de l'antrum ont été les critères analysés pour permettre une comparaison entre ces deux milieux avec le milieu enrichi avec 5 % SVF (témoin). Le taux de survie est le pourcentage de follicules arrivant en fin de culture et pour lesquels une augmentation du diamètre a été observée. Le taux de maturation est le pourcentage d'ovocytes matures obtenus par rapport au nombre de follicules mis en maturation.

Tableau II : Composition des 3 différents milieux de culture et le milieu de maturation pour l'induction de l'ovulation

	Milieu sans SVF	Milieu 1% SVF	Milieu 5 % SVF	Milieu de maturation
α MEM				
SVF	-	1 %	5 %	5 %
Albumine bovine (BSA)	3 mg/mL	-	-	-
Transferrine	5 μ g/mL	10 μ g/mL	10 μ g/mL	10 μ g/mL
Insuline	5 μ g/mL	5 μ g/mL	5 μ g/mL	5 μ g/mL
Sélénium	15 ng/mL	-	-	-
rFSH	100 mUI/mL	100 mUI/mL	100 mUI/mL	100 mUI/mL
Sodium Pyruvate	0,33 mM	-	-	-
EGF	-	-	-	1,5 UI/mL
hCG	-	-	-	5 ng/mL

7. 1. Courbes de croissance

Partant d'une taille moyenne de follicule similaire ($114,6 \pm 1,2 \mu\text{m}$) pour les 3 milieux, une différence dans l'évolution de leur diamètre a été observée dès J7 (Fig. 27). Ainsi, les follicules ayant évolué dans le milieu contenant 5 % de SVF ont atteint, en fin de culture, un diamètre 2 fois supérieur à celui des follicules cultivés dans les deux autres milieux (Fig. 27).

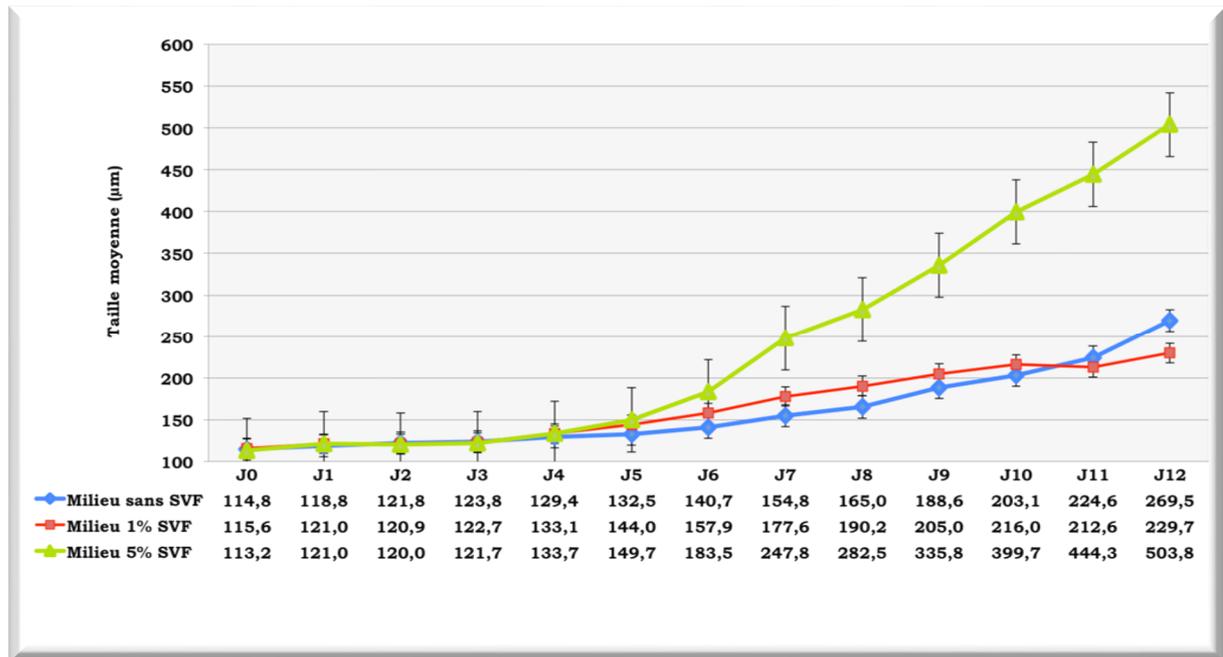


Figure 27 : Evolution des tailles moyennes des follicules mis en culture en utilisant 3 différents milieux

7. 2. Critères morphologiques et taux de maturation

Au cours de la culture avec le milieu sans SVF seulement 39 % de follicules cultivés ont adhérents au support, tandis que pour les milieux avec 1 % de SVF et 5 % de SVF tous les follicules ont adhéré (Tableau III). L'adhésion dans les milieux sans SVF a été également observée plus tardivement, puisque elle est survenue à J4 et J5 au lieu de J2 comme a été le cas pour les deux autres milieux. De plus, il a été observé que les follicules se décollaient et en fin de culture tous les follicules du milieu sans SVF étaient non adhérents. En conséquence, les follicules en culture avec de l'albumine, gardaient un aspect plutôt de culture en 3D et sans rupture complète de la membrane de Slavjanski.

Les résultats obtenus pour les autres critères sont résumés dans le tableau III. A noter qu'associée à une petite taille folliculaire on a observé également une absence de formation d'antrum et de maturation ovocytaire pour les milieux sans SVF ou avec 1 % de SVF. Les cultures avec ces deux milieux ont aussi été caractérisées par un important pourcentage d'EO.

Tableau III : Résultats de la culture en fonction paramètres utilisés pour évaluer la croissance folliculaire *in vitro* dans les 3 milieux de culture : taux d'adhésion des follicules au support de culture ; taux de rupture de la membrane de Slavjanski ; taux d'extrusion ovocytaire (EO) ; taux de formation de cavités antrum like ; taux de survie ; taux d'expulsion du complexe cumulus-ovocytaire (CCO), correspondant à l'ovulation et taux d'ovocytes matures obtenu (MII).

Milieu	Adhésion	Rupture Membrane Slavjanski	EO	Antrum	Survie	Expulsion CCO	MII
sans SVF	39 %	39 %	21 %	0 %	23 %	17 %	0 %
1% SVF	100 %	72 %	19 %	0 %	52 %	10 %	0 %
5% SVF	100 %	92 %	2 %	53 %	92 %	60 %	79 %

Même si d'autres études utilisant le même type de culture ont permis d'obtenir une croissance folliculaire *in vitro* de follicules secondaires isolés en remplaçant le SVF par de l'albumine bovine (Abedelahi et al. 2008, Choi et al. 2007) nos résultats avec l'albumine bovine ont été beaucoup moins performants que ceux avec le SVF. De plus, dans les cultures utilisant les milieux sans SVF ou avec 1 % de SVF aucun ovocyte mature n'a été observé après mise en maturation.

Ainsi, au vu des résultats obtenus j'ai choisi de poursuivre l'étude avec le milieu enrichi avec 5 % de SVF, en effectuant trois lavages successifs des follicules avec du PBS pour essayer d'éliminer au maximum le milieu de culture lors de la préparation des follicules avant les analyses protéomiques.

8. Sélection des follicules pour l'analyse protéomique

Pour le **groupe IS**, après la sélection dans le milieu de dissection les follicules ont été regroupés dans des microtubes coniques (VWR®, Fontenay-sous-Bois, France) et centrifugés (MiniSpin, Eppendorf®) pendant environ 13 secondes, le temps nécessaire pour monter au maximum de 13 400 rpm par minutes, et pour faire tomber les follicules au fond du tube. Le milieu de dissection a été ensuite éliminé et le culot de follicules a été lavé 3 fois avec 30 µL de PBS (tampon phosphate salin) (Gibco®). Chaque lavage consistait en une centrifugation de 10 minutes à 13 400 rpm avec élimination du surnageant à chaque fois. Après les lavages, les follicules ont été conservés dans l'azote liquide jusqu'à utilisation pour l'analyse protéomique.

Pour les **groupes RMS** et **FA** les follicules sélectionnés ont été raclés et recueillis avec un cône de 10 µL, puis regroupés dans un microtube conique. Les étapes suivantes, c'est-à-dire l'élimination du milieu de culture, le lavage et le stockage ont été les mêmes que pour les follicules du groupe IS. Pour chaque jour de manipulation et pour chacun des groupes, un nouveau tube a été utilisé pour éviter les cycles de décongélation/congélation.

B. Analyse protéomique

Toutes les procédures réalisées pour l'analyse protéomique ont été effectuées au sein de la Plateforme Post-génomique de la Pitié-Salpêtrière (P3S) où j'ai reçu la formation et l'aide qui m'ont permis de réaliser cette partie de ma thèse.

1. Extraction des protéines

Tous les réactifs utilisés dans le traitement des cellules pour la protéomique ont été achetés chez Sigma-Aldrich® et chez GE Healthcare® (Vélizy, France). Dans le cas contraire le distributeur sera indiqué.

Après décongélation à température ambiante, les culots folliculaires correspondant à chaque stade sélectionné ont été repris dans 15 µL de tampon de lyse (7 M urée, 2 M thiourée, 1 % CHAPS, 10 % isobutanol, 0,5 % Triton X100, 0,5 % SB 3-10, 50 mM DTT et 0,5 % d'ampholytes (pH 3-10)). Les tubes ont été ensuite mis 2 fois dans un bain à ultrasons pendant 5 minutes puis centrifugés à 20 000 xg pendant 45 minutes à 4°C. Les surnageants ont été récupérés et regroupés dans un tube pour chaque groupe étudié, qui a été nommé comme **Extrait Total (ET)**. La concentration en protéines de chaque extrait a été dosée, en triplicats, utilisant la méthode de Bradford (Bradford 1976) (Bio-Rad®, France). Puis, les échantillons ont été stockés à - 80°C jusqu'à utilisation.

2. Préfractionnement des extraits protéiques

Pour les extraits protéiques très complexes, des protéines peu abondantes peuvent se retrouver « noyées » au sein des protéines les plus abondantes. Pour pallier ce problème, il est conseillé de décomplexifier l'échantillon en réalisant un fractionnement des extraits protéiques. En fractionnant les extraits, il est possible de réduire le nombre de protéines différentes contenues dans un échantillon et ainsi de mettre en évidence des protéines moins abondantes qui ne peuvent pas être détectées lors de l'analyse de l'extrait total.

Pendant ma thèse j'ai réalisé deux méthodes de fractionnement basées sur la focalisation isoélectrique (IEF) qui sépare les protéines en fonction de leur charge native. La première se fait en phase liquide (IEF OffGel) et la deuxième se fait directement dans une bandelette composé d'un gel de polyacrylamide à 4% contenant un gradient de pH immobilisé - strip IPG (immobilized pH gradient).

2. 1. Fractionnement IEF OffGel

Avec cette approche, les échantillons liquides étaient déposés dans 3 cupules adjacentes qui étaient en contact avec une strip IPG (immobilized pH gradient) (7 cm, gradient de pH 4-7) qui a été préalablement hydratée durant une nuit dans du tampon IEF (7 M urée, 2 M thiourée, 1 % CHAPS, 10 % isobutanol, 0,5 % Triton X100, 0,5 % SB 3-10, 40 mM DTT, 0,5 % ampholytes 4-7, 10 % glycérol). Après dilution de 130 µg d'extrait total protéique dans du tampon IEF, il a été déposé dans chaque puits 75 µL du mélange. Le tout a été recouvert d'huile et le programme IEF a été appliqué à l'aide d'un EttanIPGphor II (50 V pendant 1 heure, 200 V pendant 1 heure, gradient de 200V à 1000V pendant 30 min, 30 min à 1000 V, gradient de 1000 V à 4000 V pendant 45 min, 4000 V jusqu'à atteindre un total de 8500 Vhrs). Après fractionnement la solution de chaque puits (3 fractions) a été récupérée.

Un petit volume de chaque fraction et de l'extrait total a été utilisé pour une migration en gel (SDS-PAGE) (Fig. 28) et le reste du volume a été utilisé pour la précipitation des protéines avec le kit de précipitation Perfect Focus (G-Biosciences®, St. Louis, MO, USA) selon les consignes du distributeur, en vue de leur digestion.

Le gel SDS-PAGE a permis d'observer l'efficacité du fractionnement puisque certaines bandes de protéines présentes dans l'ET l'étaient dans une seule fraction (Fig. 28, rectangles jaunes). De plus, pour certaines bandes il y a une augmentation de l'intensité du signal protéique dans les fractions par rapport à l'extrait total (Fig. 28, rectangles noirs) et même des bandes qui sont visibles dans les fractions mais pas dans l'extrait total, vraisemblablement parce que dans l'ET celles-ci se retrouvaient noyées parmi les autres protéines (Fig. 28, rectangles rouges).

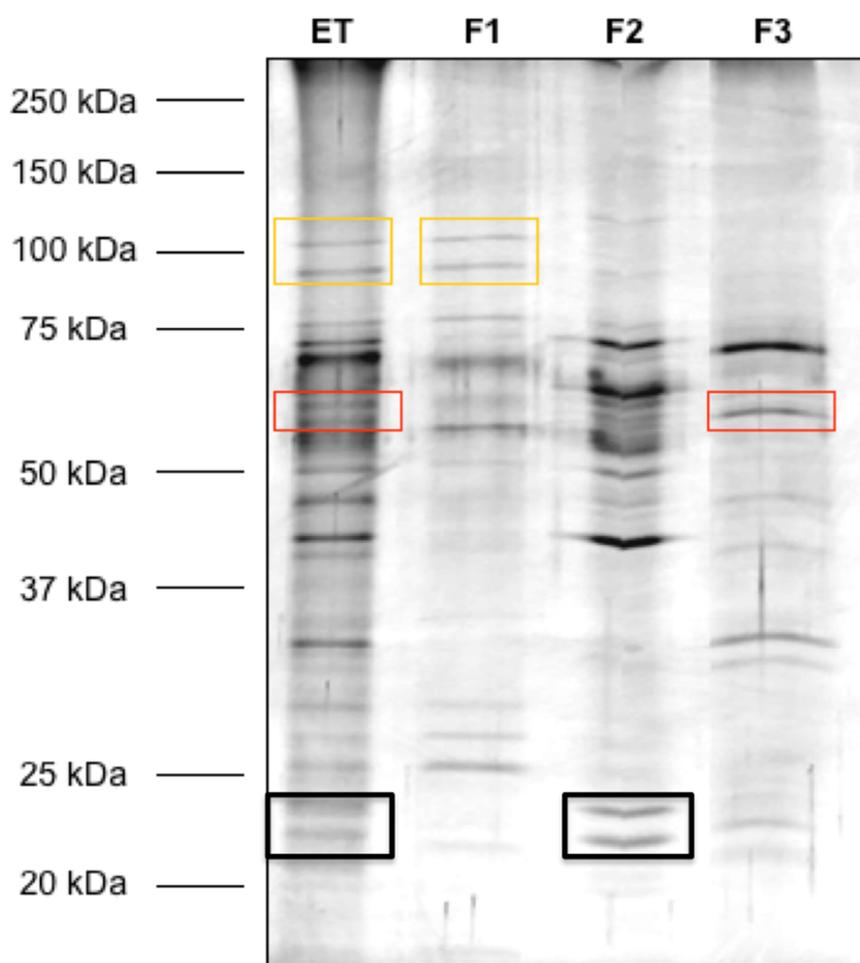


Figure 28 : Image du gel SDS PAGE effectué avec l'extrait total (ET) et les trois fractions (F1, F2 et F3) obtenues après le préfractionnement IEF OFFGEL. Les rectangles jaunes mettent en évidence des protéines présentes dans l'ET et dans une seule fraction ; les rectangles rouges soulignent la présence d'une bande de protéines dans une fraction mais non visible dans l'ET et finalement l'intensification du signal protéique dans une fraction par rapport à l'ET est illustrée par les rectangles noirs.

Cependant avec cette approche une grande perte de protéines a été observée puisque partant d'un total de 130 μg d'extrait protéique avant le fractionnement, après la précipitation le dosage des protéines était nul. Ceci peut être lié au fait qu'une plus faible quantité de protéines a été utilisée par rapport à d'autres études réalisés avant dans le laboratoire de protéomique qui utilisait entre 250 μg et 300 μg d'extrait protéique au départ, mais aussi du fait qu'avec cette méthode, les puits

n'étaient pas complètement adjacents au niveau de la strip, (Fig. 29) ayant ainsi des espaces « vides » où les protéines ne correspondant pas au pH de la zone des puits pouvaient s'immobiliser. Ayant aussi une perte des protéines qui restaient bloqués dans la strip (Fig. 29B)

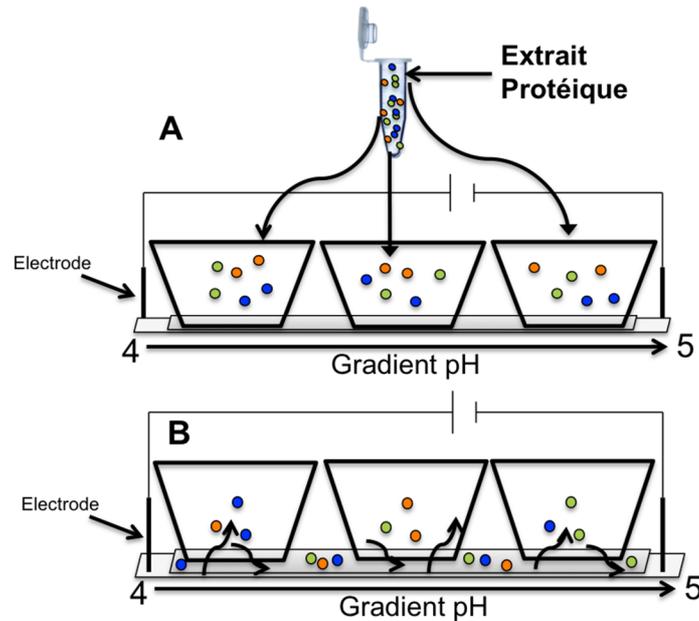


Figure 29: Image représentative du Principe du fractionnement IEF OFFGEL. Démonstration de ce que les puits n'étaient pas adjacents dans notre modèle d'étude, ayant ainsi des pertes de protéines restées dans la strip aux endroits où il n'y avait pas cupule.

Ainsi vu que dans plusieurs étapes de la technique de préfractionnement IEF OffGel une importante perte de protéines était observée, une autre approche pour le fractionnement a été choisie : IEF in gel. Ce type de préfractionnement a aussi comme principe la séparation des protéines par point isoélectrique, mais contrairement à la technique précédente les extraits sont chargés directement dans la strip.

2. 2. Fractionnement IEF in gel

Pour chaque groupe étudié 100 µg de l'extrait total a été utilisé pour le fractionnement IEF dans une strip IPG de 7 cm, pH 4 - 7 (Immobiline Dry Strip). La strip a été mise à réhydrater avec l'échantillon d'extrait total préalablement dilué dans le tampon IEF (7 M urée, 2 M thiourée, 1 % CHAPS, 10 % isobutanol, 0,5 % Triton X100, 0,5 % SB 3-10, 40 mM DTT, 0,5 % ampholytes 4-7). La migration a été réalisée dans un Ettan IPG phor II avec un programme en plusieurs étapes : 50 V pendant 1 h, une autre heure à 200 V, puis une montée graduelle de 200 jusqu'à 1000 V en 45 minutes, stabilisation pendant 45 minutes à 1000 V, suivi d'une deuxième montée graduelle de 1000 V jusqu'à 4000 V en 45 minutes et pour finaliser 3 h à 4000 V. Une fois la migration terminée les strips ont été traitées avec une solution de réduction (6 M Urée, 75 mM Tris pH 8,8, 30 % glycérol, 2 % SDS et 65 mM DTT) pendant 15 minutes et puis avec une solution d'alkylation (6 M Urée, 75 mM Tris pH 8,8, 30% glycérol, 2 % SDS and 135 mM iodo acetamide) pendant 15 minutes.

Les fractions ont été obtenues en découpant les strips en 5 parts égales de 1,2 cm, avec l'exclusion de 1 cm du coté acide de la strip, à l'aide d'un scalpel (Fig. 30b). Une courte migration de 1h à 10 mA dans un gel SDS PAGE classique à 12 % d'acrylamide a permis de retirer les protéines des bouts de strips et d'éliminer le tampon IEF qui n'est pas compatible avec la digestion trypsique (Fig. 30c et Fig. 31). Les gels ont été colorés au bleu de Coomassie grâce à l'utilisation du colorant Imperial ProteinStain (Pierce, Thermo Fischer Scientific, Courtaboeuf, France).

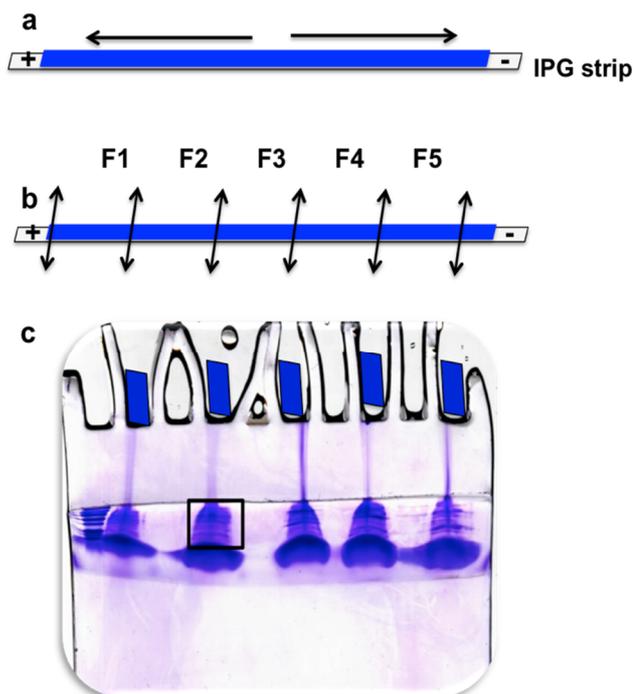


Figure 30 : Schéma du principe de la migration IEF. a) migration de l'ET sur toute la strip IPG. b) découpage des 5 fractions et c) migration rapide pour extraire les protéines des strips.

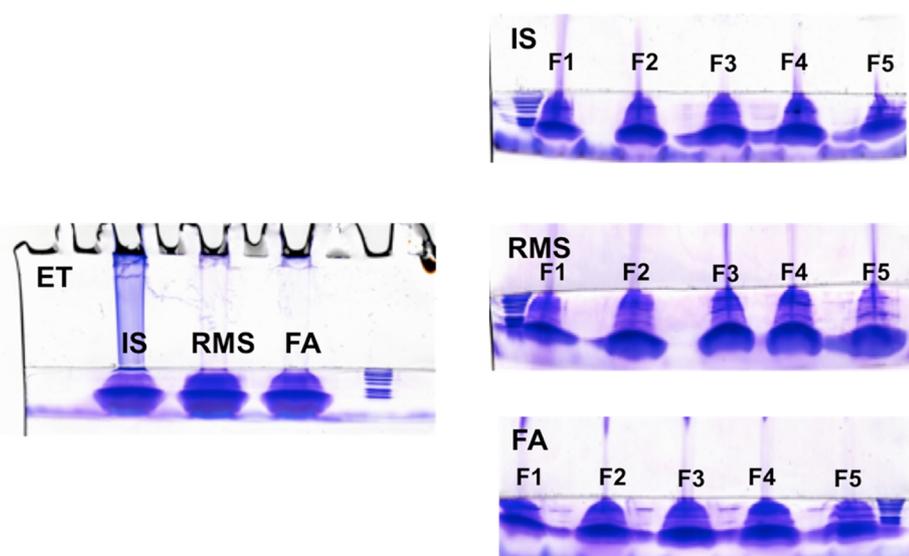


Figure 31 : Images des gels SDS PAGE après une courte migration pour les différents stades de développement avec l'obtention des 5 fractions.

3. Digestion trypsique

Pour chaque fraction une seule bande contenant toutes les protéines a été prélevée dans le gel SDS PAGE et puis découpée en petits cubes d'environ 1 mm³ (Fig. 32). Les bouts de gel ont été décolorés avec une solution de 25 mM d'AmBic et 50 % d'éthanol, déshydratés avec de l'acétonitrile (ACN) pendant 10 minutes et séchés à température ambiante. Ils ont été ensuite réhydratés avec 70 µL d'une solution avec 2 µg de trypsine et 50 mM d'AmBic pendant 30 minutes dans la glace et mis à incuber toute la nuit à 37°C.

Les surnageants ont été récupérés dans un nouveau tube. Pour extraire les peptides restant une solution de 60 % ACN et 0.1 % acide trifluoroacétique (TFA) a été ajoutée, deux fois, aux bouts des gels. Les extraits ont été concentrés au speed vac, resuspendus dans 40 µL d'une solution à 30 % ACN et 0.1 % acide formique et stockés à - 80°C jusqu'à l'analyse en spectrométrie de masse.

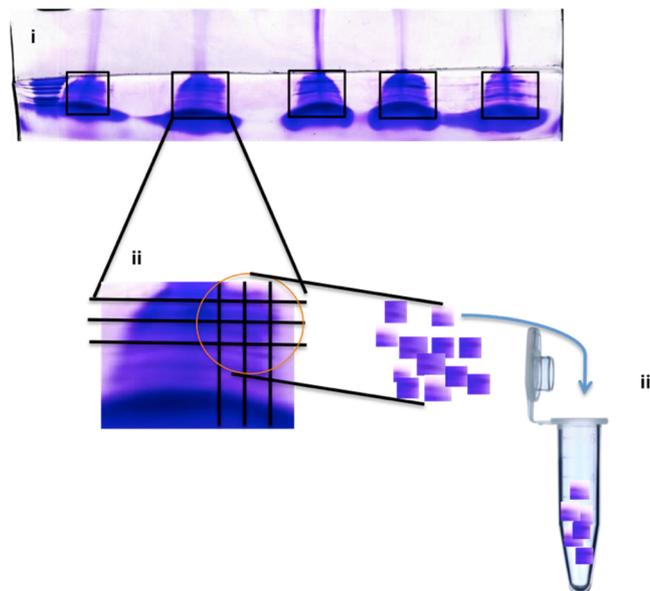


Figure 32 : Schéma i) de l'extraction d'une bande unique pour chaque fraction après une rapide migration en gel SDS PAGE; ii) du découpage en petits cubes et iii) de la préparation pour décoloration des bouts de gels avant la digestion.

4. Identification des protéines par spectrométrie de masse

4. 1. Dessalage des mélanges de peptides issus de la digestion

Pour l'élimination des sels, les peptides ont été capturés dans un cône contenant une résine greffée C-18 (Zip-Tip). Ils ont été lavés 3 fois avec une solution 0,1 % TFA puis élués avec une solution 50 % ACN/0,1 % TFA. L'éluat peptidique a été dilué dans une solution d'acide formique à 0,1% avant injection en nano LC-MS/MS.

4. 2. Analyse LC-MS/MS

Pour les analyses LC-MS/MS une chaîne de chromatographie liquide avec des nano débits (nanoLC) est couplée directement en ligne avec la source d'ions, une trappe ionique (ESI). Dans cette étude deux configurations de nano LC ont été utilisées : 1D LC-MS/MS et 2D LC-MS/MS.

4. 2. 1. Séparation des peptides par 1DLC

Dans cette configuration, les peptides étaient concentrés et dessalés pendant 5 minutes dans une pré-colonne C18 (5 mm, 300 μ mi.d., 100 Å, Dionex) avec une solution A1 (2 % ACN/0.1 % acide formique) à un débit de 20 μ L/min. Après ceci les peptides étaient séparés et élués dans une colonne analytique RP-C18 (15 cm, 75 μ m i.d., 100 Å, Dionex) à un débit de 300 nL/min, utilisant un gradient de 0 % à 30 % d'une solution à 95 % ACN, 0,1 % AF dans 0,1% AF. Pour chaque fraction et ET de chaque stade de développement folliculaire étudié, 4 injections ont été effectuées avec la configuration 1D.

4. 2. 2 Séparation des peptides par 2DLC

Dans la configuration 2D, les peptides ont été tout d'abord séquentiellement séparés grâce à l'injection de 20 μ L de solutions de concentration croissante de sels : 0, 20, 30, 50, 100 et 1000 mM d'acétate d'ammonium, dans une colonne SCX (silica capillary column Strong Cation eXchanger) (15 mm, 300 μ mi.d.,Dionex). Après cette étape, chacune des fractions salines obtenues a été concentrée et dessalée comme décrit pour la configuration 1D. L'analyse LC-MS/MS avec la configuration 2D a été réalisée 2 fois pour chaque fraction et l'ET de chaque groupe d'étude.

4. 2. 3. Analyse des peptides en MS/MS avec une trappe ionique

L'HPLC était directement connecté avec un spectromètre de masse (MS) de type trappe ionique (HCTUltra, Bruker® (Bremen, Germany) pour faire l'identification des peptides. La trappe ionique a été utilisée dans le mode positif avec la sélection des 8 précurseurs les plus abondants pour chacun des spectres MS. Ces précurseurs ont été ensuite fragmentés par CID (collision-induced dissociation) (Fig. 33).

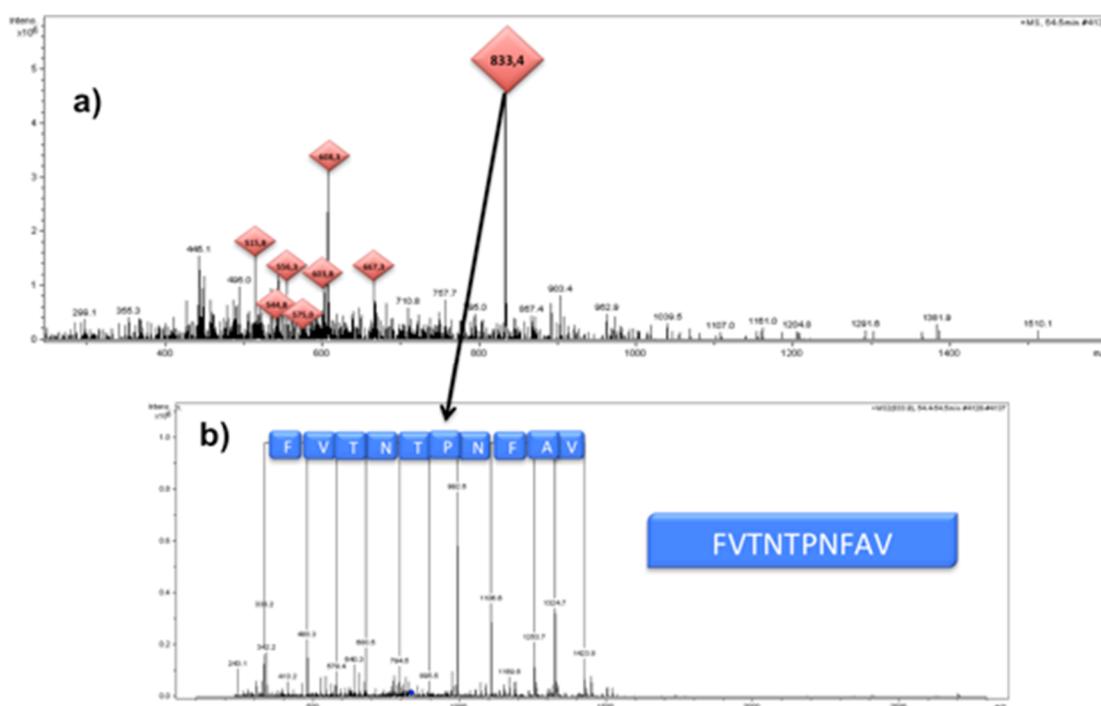


Figure 33 : a) Spectre MS avec la sélection automatique des 8 précurseurs les plus abondants (en rouge) et b) Spectre MS/MS, montrant le résultat de la fragmentation du peptide de masse sur charge (m/z) =833,4 Da, permettant l'identification de la séquence en acides aminés, FVTNTPNFAV(en bleu) composant le peptide .

5. Identification des protéines

Pour l'identification des protéines, les données MS/MS ont été soumises au logiciel X-tandem V 3.3.2, via le logiciel Xtandempipeline (<http://pappso.inra.fr/bioinfo/xtandempipeline/>). Les paramètres du logiciel étaient les suivants : enzyme = trypsine ; carbamidomethylation des cystéines ; oxydation des méthionines ; une tolérance d'erreur de masse en MS et MS/MS de

0.5 Da et un état des charges de + 1, + 2 ou + 3. Les données MS/MS ont été confrontées à la base de données Uniprot KB pour la souris datée de juin 2012. Les protéines identifiées par le logiciel ont été validées seulement si elles possédaient : au moins un peptide unique et des p value < 0,05 pour les peptides et p value < 0,003 pour les protéines. De plus, le taux de faux positifs FDR (false discovery rate) a été calculé et a toujours été trouvé inférieur à 1 % avec ces paramètres d'analyse.

6. Analyse des profils protéiques

Pour comparer les trois stades du développement *in vitro* et mieux comprendre les profils protéiques obtenus, une analyse complémentaire a été réalisée à l'aide de logiciels d'analyse et de description de listes de protéines.

6. 1. Analyse Gene Ontology (GO) via PANTHER

Toutes les protéines identifiées pour chaque groupe ont été soumises au système de classification de PANTHER version 8.1 (protein annotation through evolutionary relationship) – <http://www.pantherdb.org>. PANTHER est un logiciel accessible gratuitement sur internet qui permet d'analyser des données obtenues avec des approches de protéomique ou de séquençage génomique. Avec ce logiciel on peut obtenir une classification des protéines par rapport à leur fonction moléculaire, leur localisation cellulaire et les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées. Il permet également l'utilisation d'outils statistiques pour réaliser des études comparatives entre plusieurs groupes de données et/ou le génome de l'espèce étudiée.

Pour compléter l'étude du protéome de chacun de mes groupes d'étude, une classification par classe de protéines et processus biologiques a été réalisée pour chaque liste de protéines obtenues. De plus j'ai réalisé une étude comparative de mes données avec le génome de *Mus musculus* pour mettre en évidence des fonctions biologiques qui seraient sur ou sous exprimées dans mes données.

6. 2. Quantification label-free

La quantification label-free est une méthode d'analyse des données de spectrométrie de masse qui vise à déterminer la quantité relative des protéines entre plusieurs échantillons. Contrairement à d'autres méthodes de quantification, elle n'utilise pas un isotope stable composé d'un élément chimique qui se lie aux

protéines mais se base sur l'intensité du signal détecté pour les peptides lors de l'analyse MS. Elle nécessite la réalisation de plusieurs réplicats techniques et permet de comparer l'intensité du signal d'un même peptide entre plusieurs échantillons biologiques.

Pour ma thèse une quantification label-free a été effectuée sur les données obtenues avec l'analyse 1D LC-MS/MS uniquement, à l'aide du logiciel Progenesis LC-MS version 4.1.4832.42146 (Nonlinear Dynamics, Newcastle, Royaume Uni). Pour un échantillon donné, les données 1D LC-MS/MS sont représentées par une image dont l'axe horizontal représente la masse sur charge (m/z) des peptides et l'axe vertical le temps de rétention chromatographique (min). Les peptides apparaissent alors sous forme de spots plus ou moins foncés en fonction de leur abondance (Fig. 36). Les images de tous les échantillons (3 réplicats techniques par groupe) ont d'abord été alignées entre elles en combinant la fonction d'alignement automatique du logiciel et un alignement manuel. La détection et la quantification automatique des peptides étaient faites selon les critères suivants : un seuil d'intensité absolu des peptides de 100 000 (UA, unité arbitraire), des peptides avec une charge maximale de 3 et des temps de rétention compris entre 25 et 100 minutes. Pour chaque peptide, seuls les 5 spectres MS/MS les plus intenses ont été retenus pour l'identification par le logiciel Mascot version 2.2.07 (Matrix Science, Londres, Royaume Uni) utilisant la base de données SwissProt/Trembl *Mus musculus* du mois de mai 2013 (50807 protéines). Les paramètres pour l'identification étaient les suivants : enzyme = trypsine ; possibilité d'un seul clivage manqué ; carbamidométhylation des cystéines ; oxydation des méthionines ; tolérance d'erreur de masse MS et MS/MS de 0,5 Da et un score Mascot > 33. Les résultats obtenus avec Mascot ont été ensuite réinsérés dans le logiciel Progenesis pour permettre la connexion entre les peptides identifiés et leur abondance respective.

La quantification des protéines a été réalisée avec un minimum de 2 peptides non conflictuels, c'est-à-dire ne pouvant appartenir qu'à une seule protéine, présentant une variation entre les groupes statistiquement significative (ANOVA q -value < 0,05) et un ratio différentiel ≥ 2 . Finalement, seules les protéines ayant une différence significative entre les différents stades (ANOVA p -value < 0,05) et un ratio ≥ 2 ont été retenues.

6. 3. Ingenuity Pathway Analysis (IPA)

IPA est un logiciel qui sélectionne des protéines "noyaux" pour la construction de réseaux biologiques. Les protéines "noyaux" sont des protéines présentes dans les échantillons et qui sont connues dans l'IPKB (Ingenuity Pathways Knowledge Base) et pour lesquelles des interactions avec d'autres protéines sont décrites. Ayant pour base ces interactions le logiciel IPA construit des réseaux avec un maximum de 35 protéines. Cette information est complétée avec la fonction Path Designer qui permet la construction de graphiques et images résumant les réseaux sélectionnés.

Pour chaque réseau ou voie canonique, une p-value est calculée avec un test de Fisher en fonction des protéines identifiées, et un score est attribué indiquant la probabilité que les protéines identifiées dans un même réseau ne se retrouvent pas là simplement par le fait du hasard.

Ainsi dans ma thèse une p-value $\leq 0,05$ et un score ≥ 2 ont été choisis, indiquant qu'à 99 % le réseau n'a pas été généré au hasard

6. 3. Pathway Studio

Pathway Studio (Elsevier, BV, New York, USA) est un outil d'aide à la décision biologique permettant au chercheur d'analyser ses données expérimentales, de comprendre leur contexte biologique et de visualiser interactions et mécanismes de maladie.

Ce logiciel utilise des moteurs de recherche bibliographiques automatisés pour extraire les informations de la littérature. Les listes de protéines ont été soumises à «9.0 ResNet Mammal», la base de données qu'Elsevier a élaborée en collaboration avec des revues de haute qualité, traitant interactions biologiques, ontologies et voies. Les informations sélectionnées sont appliquées aux listes de protéines pour faire apparaître leurs interactions. Les processus cellulaires trouvés sont classés par leur degré de similitude (score p), calculé comme le rapport du nombre de protéines en commun entre la liste à analyser et le nombre total de protéines impliquées dans le processus cellulaire.

IV. Résultats

A. Acquisition des profils protéiques

1. Composition des groupes étudiés

Pour le **groupe IS** 1143 follicules avec une taille moyenne de $116,5 \pm 8,1 \mu\text{m}$ ont été sélectionnés lors de 7 manipulations différentes et ont permis l'obtention de 139,3 μg de protéines (Tableau IV).

Pour recueillir les 274 follicules, qui ont permis l'obtention de 338,5 μg de protéines, qui constituent le **groupe RMS** j'ai réalisé 4 cultures. Les follicules de ce groupe ont été recueillis entre le sixième et le neuvième jour de la culture et avaient atteint une taille moyenne de $323,8 \pm 63,9 \mu\text{m}$ (Tableau IV).

Les 124 follicules composant le **groupe FA** ont permis l'obtention de 169,8 μg de protéines. Les follicules de ce groupe ont été recueillis à J12 de la culture, au cours de 5 différentes cultures et avaient une taille moyenne de $570,2 \pm 71,1 \mu\text{m}$ (Tableau IV).

Tableau IV: Nombre de follicules, souris femelles, portées et manipulations nécessaires pour obtenir la quantité de protéines qui permettait les analyses protéomiques. Dans ce tableau il est ainsi indiqué les tailles moyennes des follicules composant chaque groupe et le jour de la culture auquel les recueils des follicules ont été faits.

	IS	RMS	FA
Nb de follicules	1143	274	124
Nb de souris femelles	19	19	22
Nb de portées	7	6	6
Nb de manipulations	7	4	5
Taille moyenne (μm)	$116,5 \pm 8,1$	$323,8 \pm 63,9$	$570,2 \pm 71,1$
Jour de recueil	J0	J6 – J9	J12
Dosage de protéines après extraction	139,3 μg	338,5 μg	169,8 μg

2. Préfractionnement IEF in gel

En combinant les protéines identifiées avec les 5 fractions et l'extrait total obtenu pour les follicules au stade FA il a été possible d'identifier 3,3 fois plus de protéines par rapport aux protéines identifiées dans l'extrait total (Fig.34A). De plus, la qualité du fractionnement a été démontrée par le faible pourcentage de protéines identifiées en commun dans les 5 fractions (1 %) et le taux élevé de protéines identifiées dans une seule fraction (79 %) (Fig. 34B).

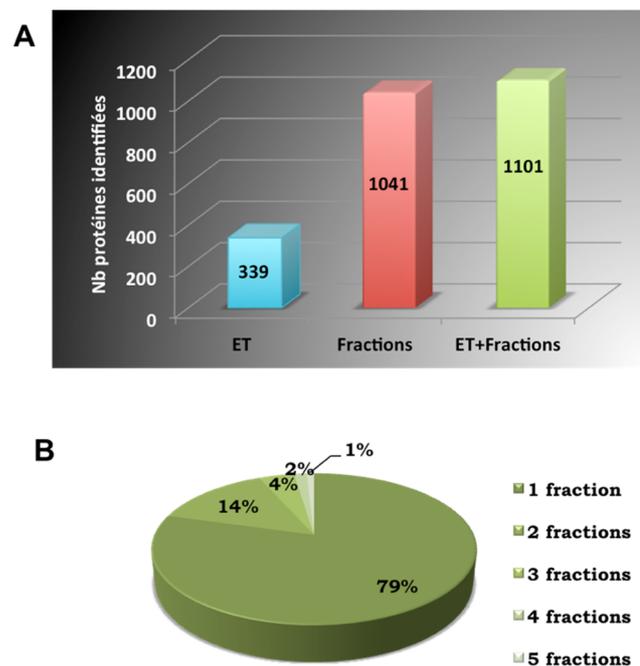


Figure 34 : Analyse de l'avantage et qualité du préfractionnement de l'extrait protéique avant digestion. A) nombre de protéines identifiées dans l'extrait total, fractions et en combinant les fractions et l'extrait total. B) Pourcentage de protéines identifiées dans une seule fraction ainsi que en commun dans 2, 3, 4 et 5 fractions.

3. Identification des protéines présentes dans les différents stades de développement

Plusieurs injections dans les deux configurations d'analyse LC – MS/MS ont été réalisées pour augmenter le nombre de protéines identifiées à chaque stade et ainsi essayer d'obtenir le plus d'informations possibles sur les protéines impliquées dans ces stades là.

Avec les 4 injections réalisées avec la configuration 1D, 600 protéines ont été identifiées au stade IS, 737 au stade RMS et 711 stade FA (Fig. 35). Les 2 injections en configuration 2D ont permis l'identification de 751 protéines au stade IS, 1033 au stade RMS et 1049 au stade FA. La 2D a ainsi permis un gain de 25,2 % au stade IS avec 151 protéines de plus, identifiées ; de 40,2 % (296 protéines de plus) au stade RMS et au stade FA avec 338 protéines de plus identifiées, un gain de 47,5 % (Fig. 35).

La combinaison des résultats obtenus avec les 4 injections en 1D et ceux obtenus avec les 2 injections en 2D a permis ainsi d'augmenter le nombre de protéines identifiées pour chaque stade et avoir un profil protéique plus complet avec 775 protéines identifiées au stade IS, 1093 au stade RMS et 1101 au stade FA. Certaines protéines ont été identifiées à la fois grâce à la 1D et à la 2D.

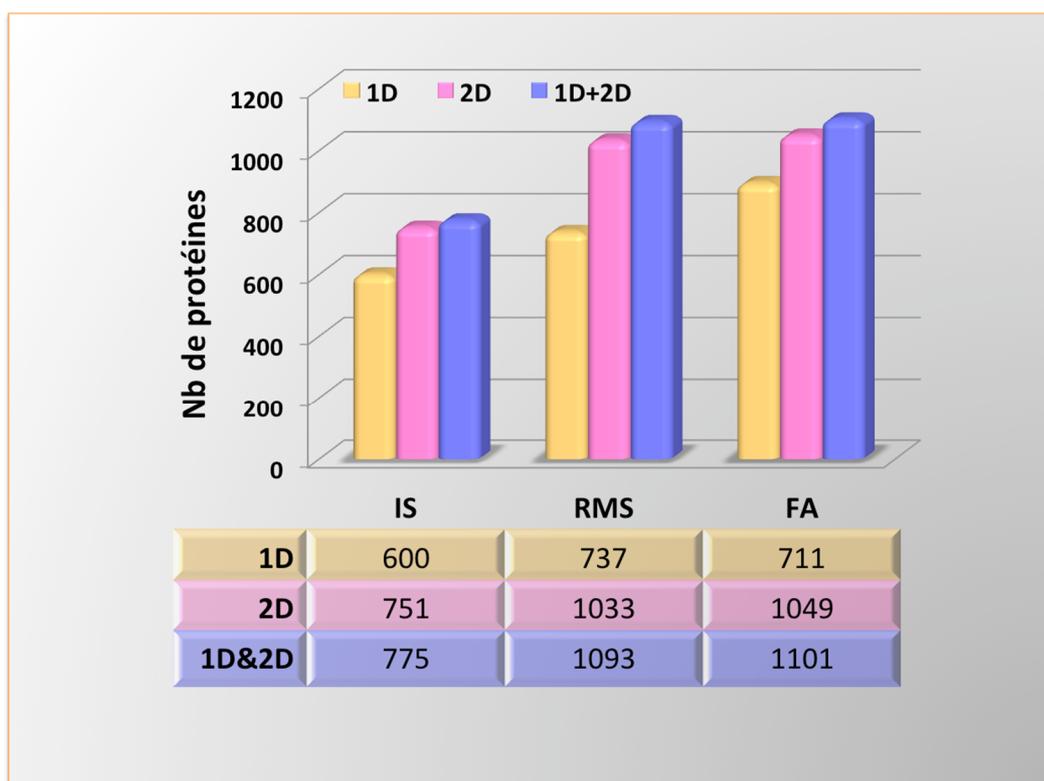


Figure 35 : Graphique et tableau du nombre de protéines identifiées à chaque stade avec la configuration 1D (orange), 2D (rose) et en bleu le nombre de protéines identifiées en combinant les deux configurations (1D + 2D).

En combinant les protéines identifiées avec les deux configurations LC – MS/MS pour les trois stades 1403 différentes protéines ont été identifiées. De ces protéines 609 (43,4 %) étaient identifiées dans les 3 stades et 348 (24,8 %) étaient communes à 2 stades. Même si la majorité des protéines ont été identifiées à plusieurs stades quelques unes l'étaient dans un seul stade : 71 (5,1 %) pour le stade IS, 182 (13 %) pour le stade RMS et 193 (13,8 %) pour le stade FA (Fig. 36). La liste des protéines identifiées dans chaque stade peut être consultée dans le Tableau I en annexe.

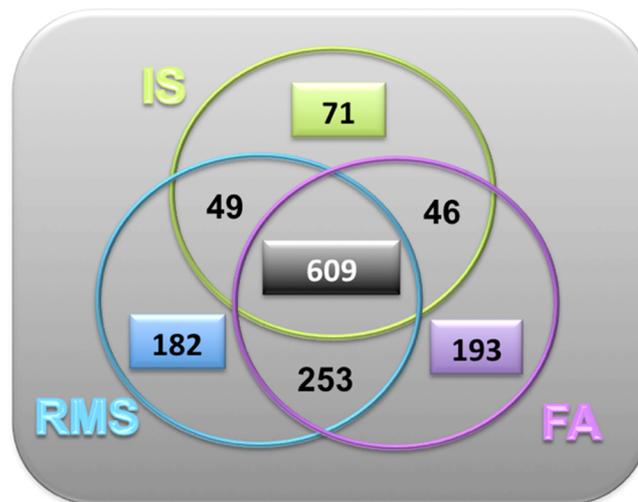


Figure 36 : Diagramme de Venn résumant la répartition des protéines identifiées aux différents stades du développement folliculaire. Le cercle vert correspond au nombre de protéines au stade IS, avec mise en évidence (dans le rectangle vert) des 71 protéines uniquement identifiées à ce stade ; dans le cercle bleu celles identifiées au stade RMS et dans le cercle violet les protéines identifiées au stade FA ; au centre le nombre de protéines communes aux trois stades ; et en noir, celles communes à deux stades de développement.

B. Analyses des profils protéiques

1. Analyse Gene Ontology avec Panther

Pour chaque stade, toutes les protéines identifiées en combinant l'analyse 1D et 2D LC – MS/MS ont été classées en classe de protéines et processus biologiques en utilisant Panther GO analyses.

1. 1. Classes de protéines

Pour les 3 stades, les protéines identifiées ont été distribuées en 22 classes de protéines. La classe des protéines impliquées dans les liaisons aux acides nucléiques a été celle avec le plus de protéines attribuées dans les trois stades (22 % pour IS ; 20 % pour RMS et 18 % pour FA). Les 4 classes suivantes avec plus de protéines attribuées étaient des classes d'enzymes : hydrolases, oxydoréductases, transférases et modulateurs enzymatiques. Ces classes dans l'ensemble correspondaient approximativement à 45 % des protéines identifiées aux stades IS et RMS ; et à 40 % des protéines identifiées dans le stade FA. Les protéines du cytosquelette, les chaperonnes et les protéases ont été les autres classes avec un minimum de 5 % de protéines attribuées dans les trois stades (Fig. 37).

La distribution des différentes protéines par classes de protéines est ainsi similaire entre les 3 stades.

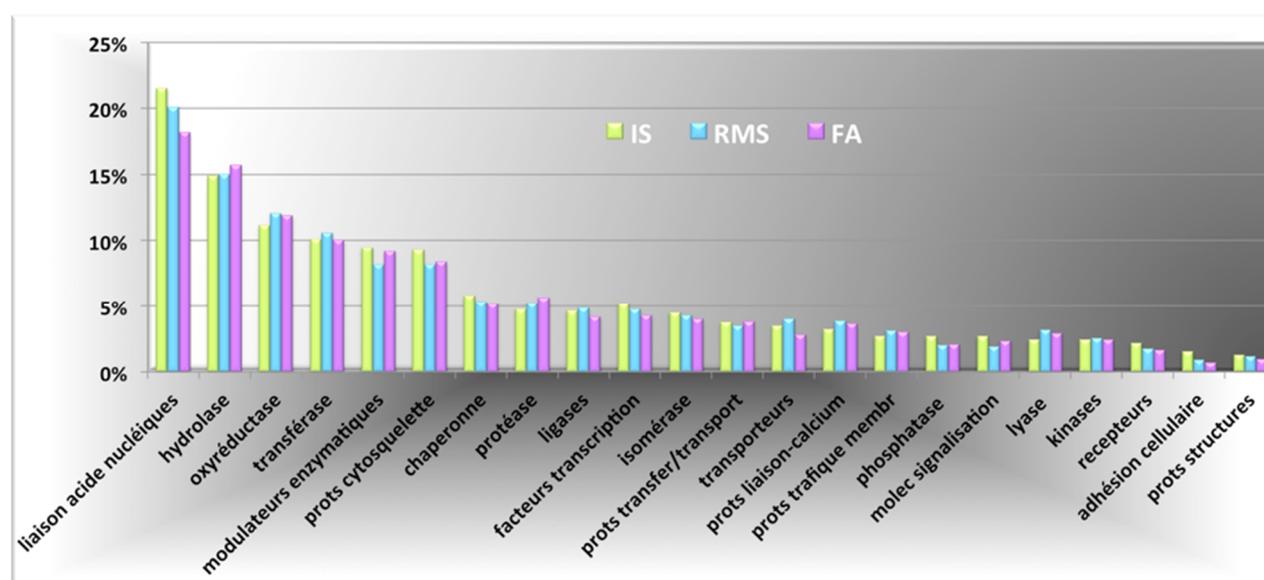


Figure 37 : Distribution des protéines identifiées dans chaque stade par classes avec l'analyse Panther.

1. 2. Processus biologiques

Un autre outil de Panther est la classification des protéines par processus biologiques dans lesquelles elles sont impliquées. A noter qu'une même protéine peut être impliquée dans plusieurs des processus biologiques.

Les processus métaboliques sont ceux avec le plus grand nombre de protéines attribuées : 487 de IS, 701 de RMS et 670 de FA, ce qui correspond à plus de 60 % des protéines dans tous les stades. Les autres 5 processus biologiques avec plus de protéines attribuées dans les trois stades étaient les processus cellulaires, le transport et plus spécifiquement le transport de protéines, le cycle cellulaire et la communication cellulaire tous avec plus de 10 % des protéines identifiées (Fig. 38).

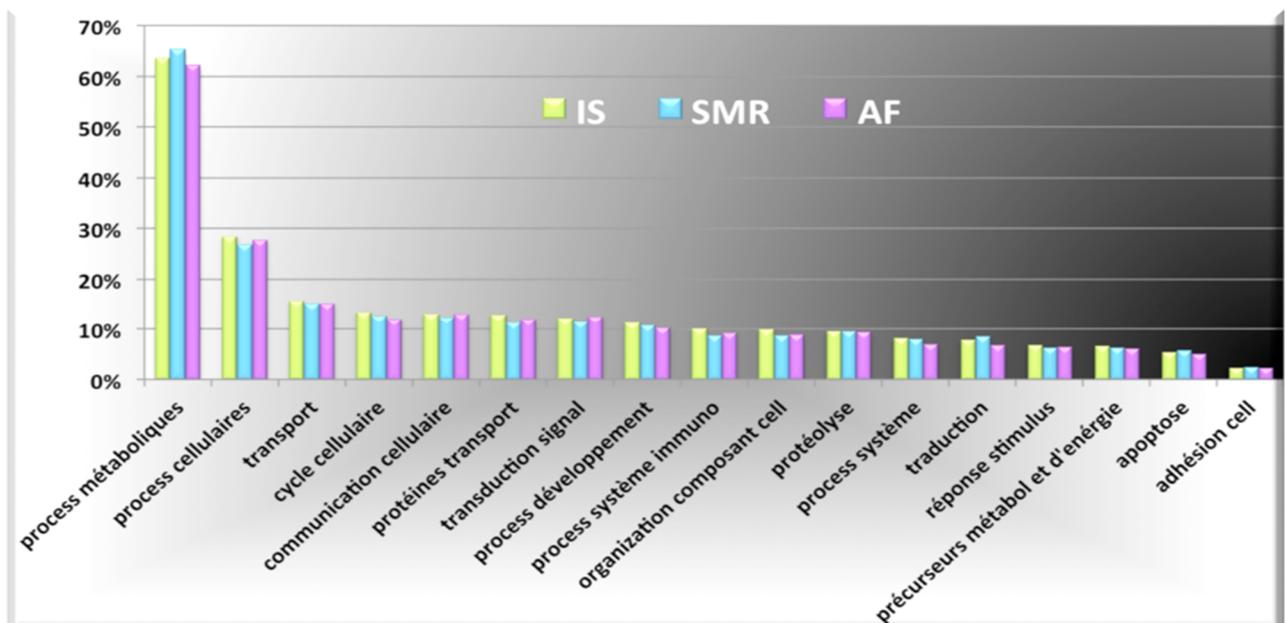


Figure 38 : Distribution des protéines identifiées, aux trois stades de développement, par processus biologique.

Malgré la similitude de distribution des protéines entre les trois stades une surreprésentation pour certains processus biologiques a été observée en comparaison avec la distribution de tous les gènes de l'espèce *Mus musculus*.

Les protéines associées à la morphogénèse des composants cellulaires et des structures anatomiques ainsi que celles impliquées dans le transport mitochondrial et la localisation de l'ARN étaient surreprésentées uniquement au stade IS. Entre les processus métaboliques ceux associés aux ferrédoxines et aux pyrimidines étaient surreprésentés seulement au stade RMS tandis que la biosynthèse des

vitamines avec 10 protéines associées étaient surreprésentées au stade FA (Tableau II en annexe).

Des processus métaboliques associés au glycogène, acides gras et à l'ADN, plus précisément la réplication de l'ADN étaient surreprésentés aux stades RMS et FA mais pas au stade IS.

Pour 32 autres processus biologiques parmi lesquels le cycle cellulaire, la production de précurseurs métaboliques et d'énergie, la traduction, les processus métaboliques concernant les protéines et le transport nucléaire et de protéines sont surreprésentés dans les trois stades de développement (Tableau II en annexe).

2. Réseaux d'interactions

Pendant la croissance folliculaire, la survie et la multiplication des cellules de la granulosa sont essentielles au développement d'un ovocyte viable. *In vitro* il y a un risque augmenté d'apoptose et de stress des cellules de la granulosa et de la thèque puisque elles ne sont plus dans leur environnement naturel et ainsi nuire au développement d'un ovocyte viable. L'analyse comparative des processus biologiques a démontré que les protéines impliquées dans l'apoptose et dans la réparation de l'ADN n'étaient pas surreprésentées dans nos échantillons. Cependant cette même analyse a démontré que les processus métaboliques liés aux dérivés aux ROS (dérivés réactifs de l'oxygène) étaient surreprésentés dans les trois stades de développement.

Pour obtenir une visualisation sur la variation des protéines impliquées dans ces processus une analyse Pathway Studio a été réalisée.

Parmi les 95 protéines identifiées, dans le profil protéique du follicule ovarien de souris et assignées par le logiciel à la **réparation de l'ADN** 50,5 % (48) n'étaient pas identifiées au stade IS. Par contre 83 soit 87,4 % étaient identifiées à RMS et 78,9 % (75) à FA.

Pour les 112 protéines ayant un lien avec les ROS, la variation des protéines au long du développement folliculaire *in vitro* était similaire avec celles impliquées dans la réparation de l'ADN. En effet pour les deux événements biologiques il y avait dans mes échantillons moins de protéines à IS par rapport aux deux autres stades, le stade RMS étant celui dans lequel plus de protéines ayant un lien avec les ROS et impliquées dans la réparation de l'ADN était identifiées (Fig. 39B). Ainsi pour le stade IS 59 protéines ont été identifiées, 98 en RMS et 96 pour FA.

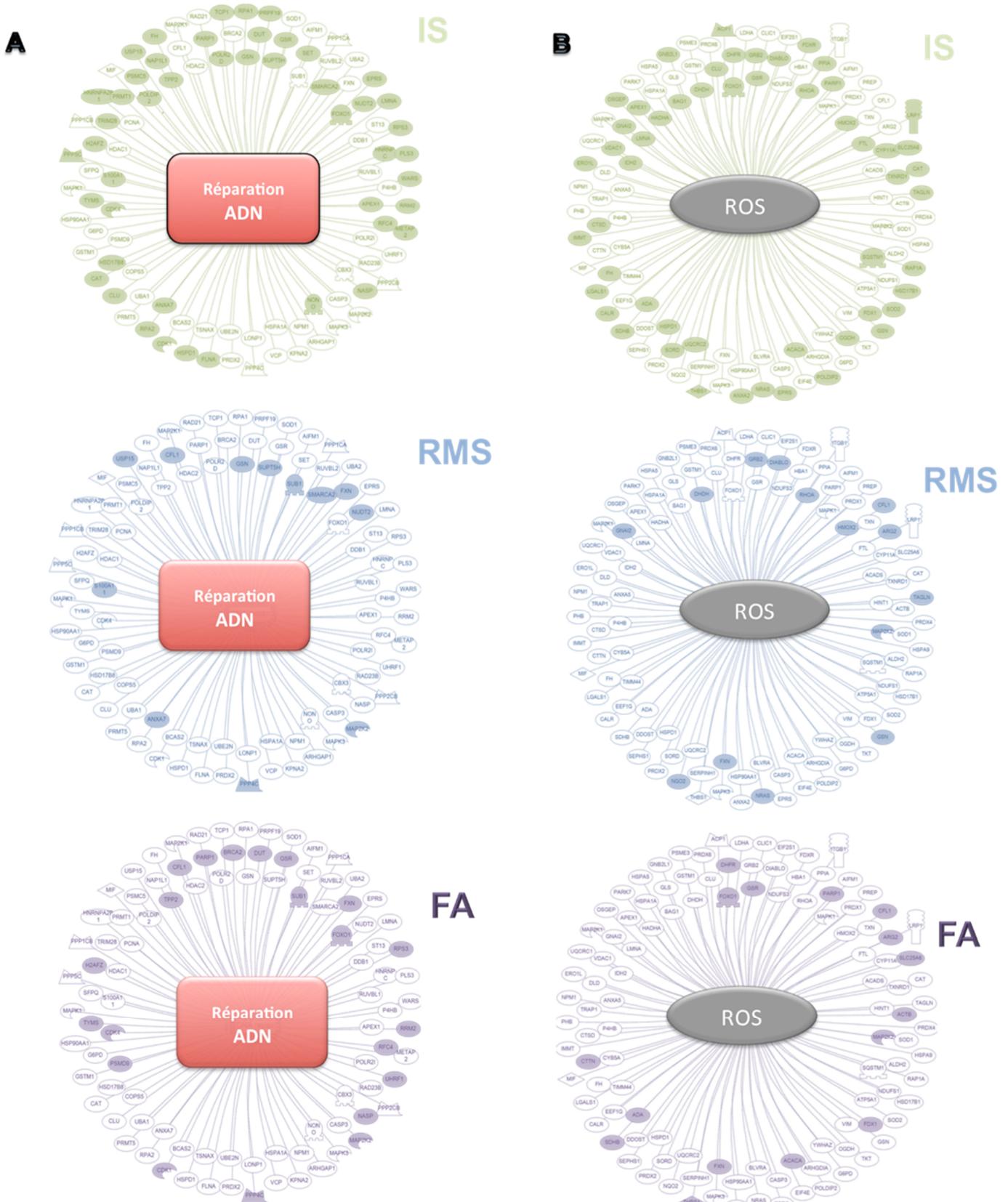


Figure 39 : Groupes de protéines identifiées dans les trois stades liés à la réparation de l'ADN (A) et à la formation de ROS (B). Les protéines identifiées à un stade donné sont représentées avec un fond blanc tandis que celles absentes ont un fond coloré.

L'analyse des protéines identifiées avec Ingenuity Pathway Analysis (IPA) a permis de mettre en évidence un réseau d'interactions de protéines impliquées dans le cycle cellulaire, notamment les cyclines dépendantes kinases (CDKs). En effet, dans ce réseau, douze protéines, dont les CDKs, ont montré une expression différenciée entre les trois stades (Fig. 40).

Au stade IS, 4 de ces protéines tels que **SKP1** (S-phase kinase-associated protein 1), **FBXW12** (F-box/WD repeat-containing protein 12), **BRCA2** (breast cancer type 2 susceptibility protein homolog) et **UBAP2L** (Ubiquitin-associated protein 2-like) ont été identifiées même en absence des CDKs (Fig. 40 IS).

Au stade RMS, 3 des 4 cyclines impliquées dans ce réseau ont été identifiées – **CDK 1**, **CDK 4** et **CDK 6**, ainsi que quatre autres protéines associées directement ou pas avec ces cyclines : **CDK5RAP3** (CDK5 regulatory subunit-associated protein 3), **FOXO1** (Forkhead box protein O1), **OGT** (UDP-N-acetylglucosamine--peptide N-acetylglucosaminyl transferase 110 kDa subunit) et **FN1** (fibronectin). De plus, les 4 protéines identifiées au stade IS l'ont été aussi à ce stade (Fig. 40RMS).

Au stade FA, un inhibiteur des CDKs - **CDKN1B** (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) a été identifié. En conséquence les protéines liées à cet inhibiteur tels que les 3 CDKs, SKP1/SKP2, FBXW12, BRCA2, FOXO1, OGT et UBAP2L et qui étaient identifiées dans les stades précédents ne l'ont plus été au stade FA, illustrant un « switch off » de ce réseau à ce stade (Fig. 40AF).

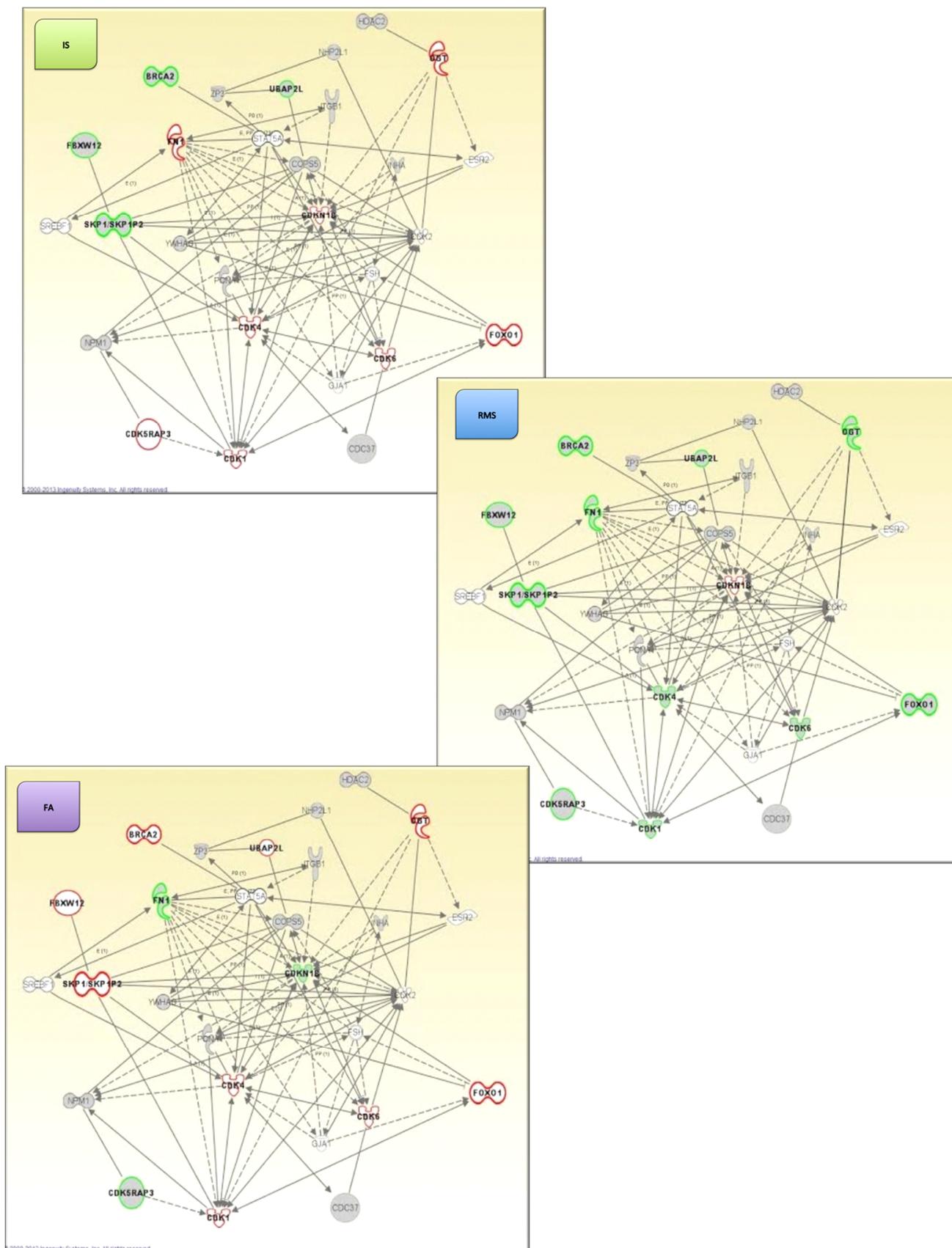


Figure 40 : Réseau d'interaction associé aux CDKs suggéré par l'analyse IPA avec mise en évidence des protéines différemment identifiées entre les trois stades IS, RMS et FA. Les protéines entourées en vert étaient identifiées au stade correspondant et en rouge celles non identifiées.

3. Analyse quantitative des protéines dans les trois stades de développement

Une quantification label-free des données, obtenues avec l'analyse 1D LC-MS/MS, a été réalisée pour mettre en évidence des variations d'abondance des protéines au long du développement *in vitro*.

Des variations quantitatives significatives entre les trois stades ont été observées pour 57 protéines (Tableau III en annexe). Ces variations, au long de la culture folliculaire, ont pu être caractérisées en cinq profils (Fig. 41).

Le profil 1 (P1) est caractérisé par les 15 protéines plus abondantes au stade IS (Fig. 41 P1). Parmi elles, 11 protéines telles que les **ZP2** et **ZP3** (zona pellucida sperm-binding protein 2 and 3), la **OOEP** (Oocyte-expressed protein homolog), la protéine **Filia** (KH domain-containing protein 3), la **TLE6** (transducin-like enhancer protein 6), la **PADI6** (protein-arginine deiminase type-6) et la **Pla2g4c** (phospholipase A2, group IVC) étaient significativement plus abondantes à IS en comparaison avec les deux autres stades (RMS et FA). Dans le même profil deux protéines étaient significativement plus abondantes à IS par rapport à RMS mais pas par rapport à FA. Les deux autres protéines appartenant à ce profil étaient significativement moins abondantes au stade FA par rapport aux stades IS et RMS.

Des cinq protéines plus abondantes au stade RMS, qui caractérise le profil 2 (Fig. 41 P2), trois sont des protéines de liaison aux ions de calcium – **CALR** (calreticulin), **CALU** (calumenin) et **MYL6** (myosin light polypeptide 6) et leur abondance était significativement inférieure aux stades IS et FA. Les deux autres protéines variaient entre RMS et FA.

La majorité des protéines (28) présentaient une abondance croissante au long du développement, caractérisant le profil 3 (Fig. 41 P3). Le quatrième profil était caractérisé par deux protéines significativement moins abondantes au stade RMS par rapport aux stades IS et FA (Fig. 41 P4).

Le profil 5 est caractérisé par des protéines significativement plus abondantes au stade FA par rapport aux deux autres stades IS et RMS (Fig. 41 P5). Deux de ces protéines, **ENOA** (alpha-enolase) et **PGM1** (phosphoglucomutase-1) sont des enzymes impliquées dans la glycolyse et une troisième, la protéine **FABP5** (fatty acid-binding protein), est un transporteur de glucose. La protéine **PKAR2B** (regulatory subunit of the cAMP-dependent protein kinases), qui était également plus abondante au stade FA, a un rôle dans la signalisation cellulaire de cAMP.

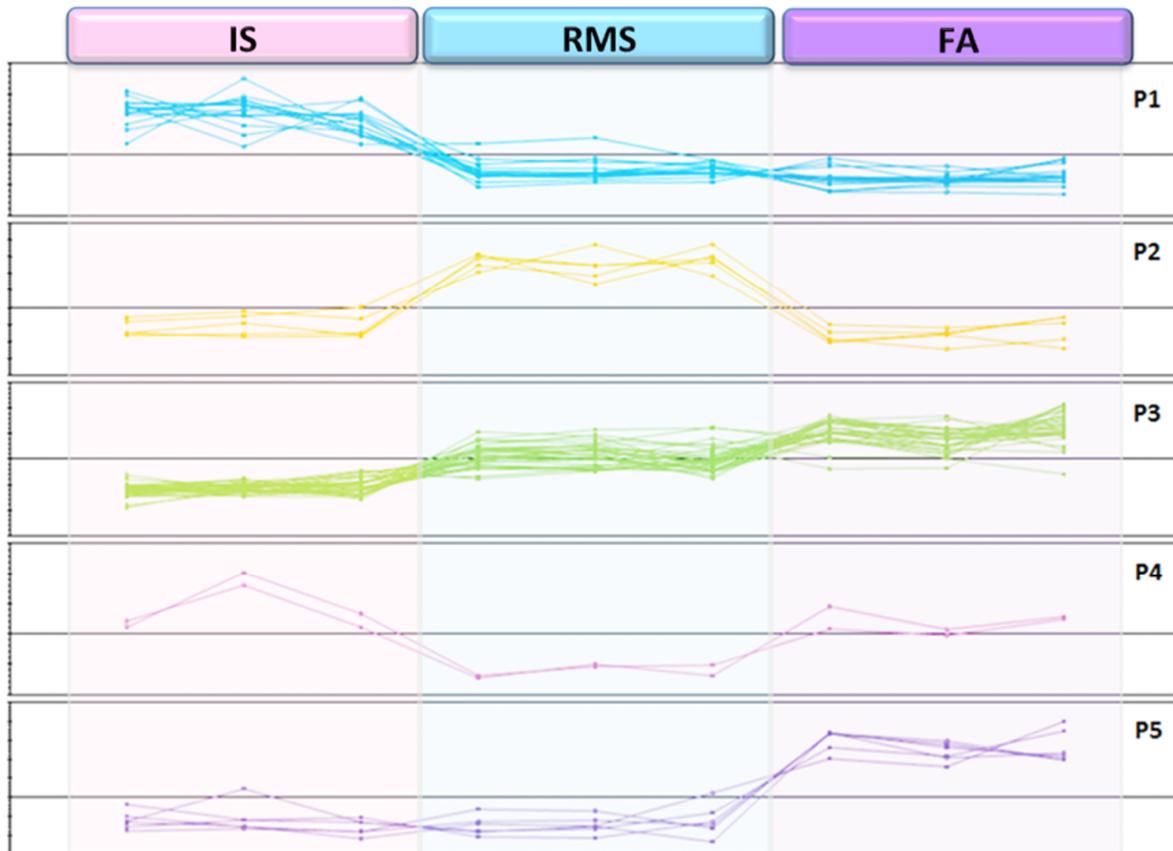


Figure 41 : Illustration des différents profils observés selon l'abondance des protéines au long du développement folliculaire *in vitro*. Profil 1 : (P1) 15 protéines plus abondantes à IS. Profil 2 : (P2) 5 protéines plus abondantes à RMS. Profil 3 : (P3) 28 protéines avec une abondance croissante au long du développement folliculaire. Profil 4 (P4) 2 protéines significativement moins abondantes à RMS par rapport à IS et FA. Profil 5 : (P5) 7 protéines significativement plus abondantes au stade FA par rapport aux stades IS et RMS.

De plus, l'analyse des 57 protéines avec IPA a suggéré la glycolyse comme la voie canonique principale avec neuf protéines impliquées. Huit de ces protéines présentaient une abondance croissante au long du développement folliculaire *in vitro* atteignant une abondance maximale à FA. La neuvième protéine, au contraire, était plus abondante à IS décroissant au long du développement (Fig. 42).

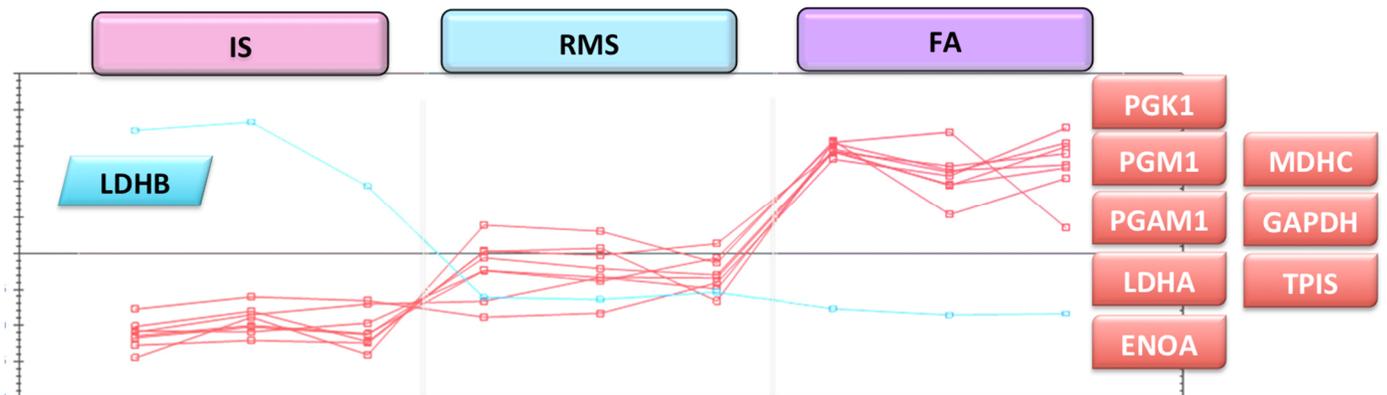


Figure 42 : Profils des neuf protéines impliquées dans la glycolyse, avec une abondance significativement différente entre les trois stades. En rouge, les 8 protéines avec une abondance croissante au long du développement folliculaire. En bleu la protéine LDHB, dont l'abondance décroît durant le développement folliculaire.

V. Discussion, Conclusion et Perspectives

Discussion

La majorité des travaux de recherche en protéomique, concernent l'ovocyte en métaphase II (mature). Le protéome d'ovocytes en fin de croissance mais qui n'ont pas repris leur méiose a aussi été décrit ainsi que celui du complexe cumulus-ovocytaire.

Le développement ovocytaire est indiscutablement lié à celui du follicule auquel il appartient avec des interactions et échanges moléculaires entre l'ovocyte et les cellules somatiques qui l'entourent. Pendant la folliculogénèse il y a un taux de transcription très élevé avec la production de protéines essentielles au développement du follicule et de l'ovocyte ainsi qu'à l'acquisition des capacités à la maturation de l'ovocyte et au développement embryonnaire.

Pour essayer de comprendre les événements moléculaires pendant la culture et obtenir des groupes les plus homogènes possibles, les stades étudiés ont été choisis selon des caractéristiques morphologiques plutôt qu'à partir d'une durée de culture, puisque tous les follicules en culture ont des rythmes de croissance différents. Pour établir le protéome du follicule lors de sa croissance *in vitro*, trois stades ont été choisis de façon à obtenir des informations sur les follicules à des stades différents et caractéristiques de leur développement. Ces trois stades sont : IS, follicules comprenant un ovocyte entouré de peu de CG qui, débutent leur croissance; RMS, correspondant aux follicules, qui en culture, montrent leur croissance par la prolifération des cellules de la granulosa provoquant une rupture de la membrane de Slavjanski ; et en dernier lieu FA, les follicules qui ont atteint la fin de leur croissance *in vitro* et qui réunissent les meilleures conditions pour que l'ovocyte qu'ils contiennent mature. A notre connaissance notre étude est la première à analyser le protéome au cours de la croissance *in vitro* de follicules entiers.

Construction des profils protéiques

Dans un premier temps et puisque le protéome de follicule n'avait jamais été décrit une mise au point des milieux de culture afin d'éviter toute contamination par les protéines du sérum lors de l'analyse protéomique. Ainsi après une recherche bibliographique le sérum de veau a été remplacé par de l'albumine bovine, dans le milieu de culture, qui, étant purifiée, pourrait être facilement identifiée lors de l'analyse protéomique et ainsi écartée de nos résultats. Cependant et malgré les résultats décrits dans la littérature comme satisfaisants pour la culture de follicules ovariens (Abdelahi et al. 2008, Choi et al. 2007, Hirao 2011), nos résultats ont été très décevants avec entre autre une croissance beaucoup moins importante des follicules, une absence de formation d'antrum, une absence d'adhésion au support et une absence d'ovocyte mature. Ainsi pour cette étude, nous avons finalement conservé le milieu conventionnel utilisé pour ce type de culture (Cortvrindt et al. 1996), en effectuant plusieurs lavages des follicules sélectionnés avant l'étape d'extraction des protéines pour l'analyse protéomique, afin d'éliminer le maximum de molécules du sérum présentes dans le milieu de culture.

Du fait de la complexité de l'échantillon étudié un préfractionnement des extraits protéiques a été réalisé, basé sur la séparation des protéines en fonction de leur charge native : IEF « in gel ». Cette étape de fractionnement a permis d'augmenter le nombre de protéines identifiées d'environ 3,3 fois par rapport à une identification directe de l'extrait total. De plus la qualité de ce fractionnement a été démontrée par le fait que 79 % des protéines n'ont été identifiées que dans une seule fraction et que seulement 1 % ont été identifiées dans les 5 fractions obtenues avec ce fractionnement.

Ainsi après ces mises au point des milieux de culture et du type de préfractionnement, le protéome du follicule ovarien de souris pouvait être établi en combinant les données obtenues après les analyses des 5 fractions et des extraits totaux protéiques obtenus à chaque stade de développement étudiés.

Combinant les données obtenues avec les deux configurations d'analyse LC-MS/MS (1D et 2D) de l'extrait total et des 5 fractions obtenues après le préfractionnement à chaque stade, 1403 protéines ont pu être identifiées constituant, à notre connaissance le premier profil protéique du follicule ovarien. A partir de ces protéines identifiées en combinant les données obtenues dans les trois stades 609 protéines sont présentes dans le follicule ovarien de souris en culture

quel que soit son stade de développement et 365 n'ont pas été décrites dans les articles concernant l'ovocyte isolé soit au stade VG soit au stade MII (Demant et al. 2012, Ma et al. 2008, Meng et al. 2007, Pfeiffer et al. 2011, Wang et al. 2010, Zhang et al. 2009), ni dans l'étude sur les CCO (Meng et al. 2007) (Tableau IV en annexe). Puisque dans cette étude c'est le follicule entier qui a été analysé et non l'ovocyte isolé il est probable qu'une partie de ces protéines qui n'ont jamais été décrites soient exprimées exclusivement dans les cellules de la granulosa ou de la thèque. Parmi les 897 protéines identifiées communes à notre étude et à l'étude de Wang, 97 n'ont été observées qu'avec des ovocytes MII ou des zygotes (Wang et al. 2010). Puisque nos protéomes, ont été obtenus uniquement avec des ovocytes bloqués en fin de prophase I (VG), nous pouvons en conclure que ces protéines, si exprimés uniquement dans l'ovocyte, sont fort probablement déjà exprimées avant la reprise de la méiose.

Analyse des profils protéiques

Aucune différence, entre les trois stades, n'a été observée dans le classement des protéines identifiées, que ce soit par classes ou par fonction biologique. Comme dans le classement des protéines identifiées auparavant avec le protéome de l'ovocyte (Meng et al. 2007; Ma et al. 2008; Zhang et al. 2009; Wang et al. 2010; Pfeiffer et al. 2011; Demant et al. 2012), les processus métaboliques correspondent à la fonction biologique avec le plus grand nombre de protéines attribuées, suivi des processus cellulaires, du transport et de la communication cellulaire. Ceci indique que la distribution des protéines identifiées, en termes de fonctions biologiques, dans l'ovocyte en fin de croissance et dans le follicule pendant son développement est identique.

L'importance de certaines fonctions biologiques dans le développement *in vitro* du follicule ovarien de souris a été suggérée par les 44 fonctions biologiques qui étaient surreprésentées dans nos groupes par rapport à la distribution des fonctions des gènes constituant le génome de *Mus musculus*.

Plus de 20 fonctions biologiques étaient surreprésentées aux trois stades de développement, comme le cycle cellulaire et la mitose, plusieurs processus métaboliques liés aux protéines et aux acides aminés, ainsi que la traduction, le transport nucléaire et le transport de protéines. Nos résultats sont cohérents avec l'intense prolifération des cellules somatiques qui se vérifie dans le follicule en croissance, l'intense traduction menant à la production des protéines nécessaires

non seulement à la croissance du follicule et de l'ovocyte mais aussi à l'acquisition de compétences pour des événements futurs, ainsi que le besoin d'interactions entre les différentes cellules du follicule pour favoriser les échanges moléculaires indispensables au bon développement de cette structure fonctionnelle.

D'autre part, certaines fonctions biologiques sembleraient avoir un rôle prépondérant à certains moments du développement puisqu'elles ne sont surreprésentées qu'à un des trois stades du développement folliculaire. C'est le cas des protéines impliquées dans la formation et organisation des structures cellulaires, la localisation de l'ARN et le transport impliquant les mitochondries qui sont surreprésentées uniquement au stade IS.

Les processus métaboliques impliquant des ferrédoxines sont surreprésentés uniquement au stade RMS et c'est aussi uniquement à ce stade que l'adrénodoxine (**FDX1**), appelée ferrédoxine 1 chez l'humain, a été identifiée. Cette protéine est, entre autres processus métaboliques, impliquée dans la stéroïdogénèse (Miller 2005) et sa transcription semble augmenter proportionnellement au taux d'AMPc (Imamichi et al. 2013) pouvant ainsi indiquer l'augmentation de l'activité stéroïdogène des follicules en croissance. Ces résultats sont en accord avec des études de sécrétion d'œstradiol dans les follicules ovariens en culture, qui associent la sécrétion à la prolifération cellulaire, décrivant que la sécrétion stagne ou diminue avec le ralentissement de la prolifération des cellules de la granulosa (Boland et al. 1993, Dorphin et al. 2012, Liu et al. 2002).

Au stade AF c'est la biosynthèse de vitamines qui semble avoir un rôle particulier, puisque c'est uniquement à ce stade qu'une surreprésentation de ce processus métabolique a été observée. La présence de vitamines dans les cellules de la granulosa a été décrite à différents stades de développement (Deane 1952, Murray et al. 2001, Wojtusik et al. 2012) et dans le liquide folliculaire (Ozkan et al. 2010, Prieto et al. 2012). Plusieurs fonctions leurs sont attribuées, selon la vitamine, et leur présence a été décrite comme nécessaire au développement folliculaire mais pas indispensable (Kinuta et al. 2000, Murray et al. 2001, Sun et al. 2010, Wojtusik et al. 2012). Leur addition aux milieux de culture semble aussi améliorer plusieurs paramètres de croissance et avoir un effet antioxydant, protégeant des effets survenues dû au stress oxydative (Deb et al. 2012, Murray et al. 2001, Talebi et al. 2012). Dans nos résultats aucune vitamine en particulier a été identifiée, mais puisque les protéines impliquées dans leur synthèse étaient uniquement surreprésentées en fin de culture il semble que le follicule arrive lui

même à produire des vitamines et que cette activité est plus nécessaire en fin de culture. Ceci est cohérent avec le rôle de la vitamine C et D, par exemple, qui ont été décrites comme stimulant l'activité stéroïdienne des follicules (Byrd et al. 1993, Murray et al. 2001, Ozkan et al. 2010).

L'importance croissante et proportionnelle des processus métaboliques liés au glycogène et aux acides gras avec la croissance folliculaire (Collado-Fernandez et al. 2012) a été appuyée par la détection d'une surreprésentation de ces processus métaboliques dans nos résultats aux stades RMS et FA uniquement.

Implications des protéines du cycle cellulaire

Pendant la croissance folliculaire une augmentation importante du volume et de la taille du follicule est observée. Ceci est lié à l'intense prolifération des cellules de la granulosa par mitose. Dans notre étude, les protéines associées au cycle cellulaire, et plus spécifiquement à la mitose sont surreprésentées dans les trois stades de développement. La progression du cycle cellulaire et en conséquence la prolifération cellulaire sont régulées par les CDKs, les cyclines et par des inhibiteurs des CDKs (Robker et al. 1998, Schwartz et al. 2005). L'analyse IPA de nos résultats a pu mettre en évidence un réseau dans lequel l'expression de 12 protéines impliquées dans le cycle cellulaire et l'interaction avec des CDKs, variait au cours du développement folliculaire établissant un parallèle avec l'intensité de la prolifération des CG.

Au stade IS, seulement 4 des 12 protéines qui variaient, ont été identifiées et aucune des CDKs n'était présente. Ces résultats sont en accord avec le fait qu'à ce stade le follicule possède encore très peu de cellules de la granulosa et l'activité mitotique est moins intense qu'aux autres stades.

Au stade RMS, qui lui, est associé à une forte prolifération des cellules de la granulosa et de la thèque, 11 des 12 protéines qui variaient ont été identifiées. Parmi elles les **CDKs 1, 4 et 6**, **FOXO1** et **OGT** ont été identifiées uniquement à ce stade. La présence des CDKs à ce stade uniquement, corrobore l'intense activité mitotique des cellules somatiques du follicule pendant sa croissance, puisque celles-ci liées aux cyclines sont responsables de la progression du cycle cellulaire et en conséquence de la prolifération des CG (Coqueret 2002, Sherr 1994, Shimizu et al. 2013). Une autre protéine identifiée uniquement à ce stade a été **FOXO1** qui a été décrite comme exclusivement exprimé dans les CG de follicules en croissance (Tarnawa et al. 2013) avec des niveaux d'expression moins importants dans les plus grands follicules antraux et périovulatoires (Shi et al. 2003). Elle régule l'expression

de gènes associés à la prolifération, l'apoptose et l'homéostasie des CG en culture (Liu et al. 2009, Liu et al. 2013, Park et al. 2005). De plus les CDKs 4/6 et FOXO1 font partie de la liste de protéines jamais décrites dans le protéome de l'ovocyte isolé appuyant leur localisation dans les CG.

A partir de J9, un ralentissement de la prolifération des cellules de la granulosa est observé *in vitro* (Pesty et al. 2007). Ainsi le follicule continue de croître mais l'activité mitotique se ralentit. Dans notre étude, ceci a été mis en évidence par l'identification uniquement au stade FA de la protéine **CDKN1B**. Cette protéine inhibe la progression du cycle cellulaire, en empêchant la formation des complexes cycline E-CDK2, cycline D-CDK4/CDK6, et en conséquence la croissance cellulaire (Bayrak et al. 2003, Rajareddy et al. 2007). Vu que la présence de cette protéine a été décrite dans les cellules de la granulosa de follicules à tous les stades de développement, nos résultats suggèrent qu'au stade FA cette protéine devient plus abondante par rapport aux autres stades. De plus des études ont démontré que cette protéine est importante pour la lutéinisation des follicules et pour l'ovulation (Fero et al. 1996, Kiyokawa et al. 1996, Nakayama et al. 1996). Pouvant être ainsi un bon marqueur pour la qualité de la culture et du follicule apte à ovuler.

L'apoptose, ROS et réparation de l'ADN

Au cours de la folliculogénèse un grand nombre de follicules ne finissent pas leur croissance et dégèrent. Cette dégénérescence est essentiellement due à l'arrêt de la prolifération des cellules de la granulosa et, en conséquence, leur mort par apoptose. Puisque dans l'ovaire environ 99 % des follicules qui entrent en croissance dégèrent, il semble naturel que, dans le protéome de l'ovaire, l'apoptose soit une des fonctions biologiques ayant le plus de protéines attribuées (He et al. 2014).

Dans chacun des trois stades étudiés, uniquement 5 % des protéines étaient attribuées à cette fonction. L'apoptose n'était surreprésentée à aucun stade de développement, ce qui peut montrer que les conditions de culture n'induisaient pas la production de protéines liées à l'apoptose montrant ainsi une bonne qualité des conditions de culture. *In vivo* les follicules en croissance sont constamment en concurrence pour les ressources qui leur permettent de se développer ce qui conduit à la « mort des plus faibles ». Cependant en culture, les follicules évoluent isolement et sans concurrence pour les ressources. Ceci permet que beaucoup plus de follicules arrivent à se développer et atteindre la maturation et que les taux

d'apoptose observée *in vitro* soient beaucoup moins importants que ceux observés *in vivo*.

Cependant une analyse avec Pathway Studio a montré qu'aux stades RMS et FA il y avait presque 2 fois plus de protéines impliquées dans la production de ROS et dans la réparation de l'ADN, par comparaison avec le stade IS. Ceci pourrait être justifié par l'exposition aux conditions de culture, puisque contrairement aux deux autres groupes, les follicules constituant le groupe IS y sont beaucoup moins exposés. Cependant au stade FA, qui correspond aux follicules en fin de culture, donc plus exposés, moins de protéines associées à ces deux événements ont été identifiées par rapport au stade RMS. Cette différence pourrait avoir un rapport avec le changement de structure du follicule qui passe de 3D à 2D avec la rupture de la membrane de Slavjanski. Néanmoins si cette modification de structure fait augmenter la transcription de protéines impliquées dans la production de ROS et dans la réparation de l'ADN cela ne semble pas être très délétère à la croissance folliculaire puisque elle se poursuit sans augmenter, ce type de protéines étant même moins abondantes en fin de culture.

Protéines différemment abondantes entre les stades

La quantification label free a été une autre façon d'analyser et de comparer les protéines identifiées dans les trois stades de développement choisis, pour essayer de trouver des protéines qui, bien qu'également identifiées dans les trois stades, se distingueraient par leur abondance à un stade déterminé. A cause des limites du logiciel utilisé, cette analyse n'a pu être effectuée qu'avec les données obtenues par l'analyse 1D LC-MS/MS.

Du fait que l'étude a été réalisée avec des follicules entiers et que le nombre de follicules composant chaque stade de développement était différent, il apparaît normal que les protéines essentiellement exprimées dans les ovocytes diminuent au cours de la croissance folliculaire et qu'en sens inverse celles associées aux cellules de la granulosa augmentent.

C'est le cas, par exemple, de six protéines qui, dans notre étude, sont plus abondantes au stade IS, alors qu'elles ont été décrites dans l'ovocyte avec une expression croissante au cours du développement ovocytaire, à savoir les glycoprotéines **ZP2** et **ZP3** (Epifano et al. 1995), la protéine **PADI6** (egg and embryo abundant PAD) (Wright et al. 2003) et 3 membres du SCMC (subcortical maternal complex) : **OOEP**, Filia (**KHDC3**) et **TLE6** (Li et al. 2008).

Néanmoins les 57 protéines présentant une abondance variable ont été distribuées en 5 profils de variation différents indiquant un schéma plus complexe qu'une simple réduction des protéines de l'ovocyte et augmentation des protéines de la granulosa.

Surexpression de protéines associées au calcium

Certaines protéines, par exemple, ont un niveau d'expression maximum ou au contraire minimum au stade RMS, suggérant des régulations spécifiques à ce stade à l'échelle du follicule. C'était le cas, notamment, de la protéine calréticuline (**CALR**) qui était significativement plus abondante au stade RMS où une grande prolifération des cellules de la granulosa est observée. Cette protéine a été considérée comme l'une des plus importantes protéines chaperonnes de liaisons avec le Ca^{2+} dans l'ovocyte (Zhang et al. 2010). De plus, cette protéine qui avait été identifiée comme une des protéines de surface de l'ovocyte la plus abondante (Calvert et al. 2003), n'a pas été identifiée au stade IS, de même que la protéine caluménine (**CALU**). La protéine **MYL6** (myosine light protein 6), identifiées aux trois stades était également plus abondante au stade RMS. Ces trois protéines, plus abondantes au stade RMS, sont impliquées dans la fixation des ions calcium suggérant un rôle crucial des échanges de calcium, dans le follicule, à ce stade.

Protéines associées à la glycolyse et au métabolisme des glucides

L'analyse quantitative a aussi mis en évidence les protéines impliquées dans le métabolisme des glucides et en particulier la glycolyse. La glycolyse est décrite comme une voie très importante d'utilisation du glucose dans les grands follicules en développement, puisqu'elle est nécessaire non seulement à leur développement mais aussi à la production d'œstradiol (Boland et al. 1993, Collado-Fernandez et al. 2012, Xu et al. 2009). Pour le follicule antral obtenu *in vitro*, la glycolyse constitue même la source principale d'ATP (Boland et al. 1993, Harris et al. 2007).

Plusieurs protéines impliquées dans cette voie ont été identifiées telles que la pyruvate kinase M2 (**KPYM**), la **PGM1**, les L-lactate dehydrogenase chain A and B (**LDHA**, et **LDHB**), l'**ALDOA** (Fructose-bisphosphate aldolase A), l'**ENOA** (enolase alpha), l'**ENOG** (enolase gamma), l'**ADPGK** (ADP glucokinase), la **GAPDH**, la **G6PD1** (glucose-6-phosphate), la **TPIS** (Triosephosphate isomerase) la **K6PP** (6-phosphofructokinase type C), la **PGAM1** (phosphoglycerate mutase 1), la **MDHC** (Malate dehydrogenase, cytoplasmic) et la **PGK1** (phosphoglycerate kinase 1). Pour

neuf d'entre elles une abondance variable au long du développement folliculaire *in vitro* a été observée : 8 augmentaient graduellement étant toutes plus abondantes à AF, tandis que, la protéine **LDHB** présentait un comportement complètement contraire, étant plus abondante à IS. Ces résultats confirment ainsi le besoin plus important d'énergie des follicules en fin de culture.

La protéine LDHB et son mARN correspondant ont été identifiés dans l'ovocyte en quantités croissantes au cours du développement folliculaire, dans les ovocytes après maturation et même au début du développement embryonnaire (Brinkworth et al. 1978, Li et al. 2006, Roller et al. 1989, Winger et al. 2000). Nos résultats cependant montrent une diminution d'abondance de cette protéine, ce qui pourrait indiquer que cette protéine est spécifiquement localisée dans l'ovocyte uniquement.

Régulation de la PKA

Au stade FA une autre protéine a attiré notre attention – la **PRKAR2B**, qui est une sous-unité de la PKA (cAMP-dependent protein kinase) impliquée dans la signalisation de l'AMPc dans les cellules.

Des taux élevés d'AMPc dans l'ovocyte sont essentiels pour le maintien du blocage méiotique, cependant la source de l'AMPc reste discutée puisque une théorie défend le fait que l'ovocyte produit lui-même un inhibiteur à la dégradation de l'AMPc (Mehlmann 2005, Scotchie et al. 2009, Zhang et al. 2006) et une autre que le blocage méiotique est maintenue grâce aux apports d'AMPc, par les cellules de la granulosa via les gap junctions (Sela-Abramovich et al. 2006). Des taux plus élevés d'une protéine impliquée dans la signalisation de l'AMPc pourraient plutôt suggérer sa production par les cellules de la granulosa, puisque à ce stade il y a un plus grand nombre de cellules de granulosa par rapport aux autres stades.

Conclusions et perspectives

L'importance du follicule en tant que structure qui permet le développement du gamète féminin est indiscutable. Les connaissances moléculaires au sujet du follicule décrivent essentiellement leur activation, leur sortie du pool de réserve, et leur maturation en fin de croissance avec l'expulsion de l'ovocyte mature. Cependant beaucoup d'évènements se passent entre ces étapes. Pendant cette période, l'ovocyte va lui aussi grandir et acquérir les compétences qui en feront un gamète féminin de qualité. Ainsi décrire et connaître les changements moléculaires qui ont lieu tout au long du développement folliculaire pourraient permettre de mieux connaître et comprendre les besoins de cette structure pour aboutir à la formation de cette cellule si rare qu'est l'ovocyte mature.

Ce travail de thèse, qui avait comme objet d'étude le follicule entier, a permis de mettre en évidence 1403 protéines impliquées dans le développement folliculaire représentant jusque là le premier profil protéique du follicule en croissance. Cette liste qui n'est pas exhaustive et qui représente quelques protéines les plus abondantes dans le follicule pourra servir de point de départ pour beaucoup d'autres études qui permettront de mieux comprendre le rôle et l'enjeu de certaines de ces protéines dans le développement folliculaire. De plus, les analyses qualitatives et quantitatives réalisées ont pu mettre en évidence des différences non seulement d'expression mais aussi d'abondance des protéines au cours du développement folliculaire suggérant qu'à certains moments leur rôle dans le développement est plus prépondérant. Quelques exemples ont pu être vérifiés dans cette étude comme la dynamique d'interaction de quelques protéines impliquées dans le cycle cellulaire mettant en évidence le moment où les cellules du follicule sont plus actives mitotiquement et inversement moins actives avec même l'identification d'un inhibiteur au stade plus tardif (FA), ce qui dans le futur pourrait servir de marqueur de croissance folliculaire. L'expression et l'abondance plus importantes de protéines impliquées dans la glycolyse en fin de croissance montrant qu'à ce stade la production d'énergie est plus importante qu'à d'autres stades du développement. Les protéines impliquées dans la régulation et la liaison aux ions calcium sont plus actives au stade intermédiaire du développement.

Beaucoup d'autres fonctions biologiques, qui ont été mis en évidence avec cette étude comme étant surreprésentées dans le follicule par rapport au génome de la souris, doivent être l'objet de futures études plus approfondies pour comprendre

les causes de cette surreprésentation et leur conséquence dans le développement folliculaire.

Ainsi, ce travail ouvre de nombreuses perspectives pouvant servir de point de départ pour d'autres études plus ciblées sur le rôle spécifique de certaines familles de protéines dans le développement folliculaire.

Concernant les protéines qui n'ont pas été identifiées aux trois stades simultanément, il serait aussi important de vérifier si elles sont en plus faible abondance ou totalement absentes dans les autres stades et d'en étudier l'impact sur développement folliculaire. Ceci permettrait ainsi d'aider à mieux comprendre entre autres les évènements moléculaires impliqués dans le développement folliculaire à des stades moins connues et qui permettront également d'améliorer les conditions de culture ainsi que l'étude de follicules issus de la préservation de la fertilité avec le développement de marqueurs de qualité du développement folliculaire.

VI. Bibliographie

Abedelahi, A., Salehnia, M. and Allameh, A. A. (2008). "The effects of different concentrations of sodium selenite on the in vitro maturation of preantral follicles in serum-free and serum supplemented media." J Assist Reprod Genet **25**(9-10): 483-488.

Abir, R., Franks, S., Mobberley, M. A., Moore, P. A., Margara, R. A. and Winston, R. M. (1997). "Mechanical isolation and in vitro growth of preantral and small antral human follicles." Fertil Steril **68**(4): 682-688.

Abir, R., Roizman, P., Fisch, B., Nitke, S., Okon, E., Orvieto, R. and Ben Rafael, Z. (1999). "Pilot study of isolated early human follicles cultured in collagen gels for 24 hours." Hum Reprod **14**(5): 1299-1301.

Adhikari, D., Zheng, W., Shen, Y., Gorre, N., Hamalainen, T., Cooney, A. J., Huhtaniemi, I., Lan, Z. J. and Liu, K. (2010). "Tsc/mTORC1 signaling in oocytes governs the quiescence and activation of primordial follicles." Hum Mol Genet **19**(3): 397-410.

Ambekar, A. S., Nirujogi, R. S., Srikanth, S. M., Chavan, S., Kelkar, D. S., Hinduja, I., Zaveri, K., Prasad, T. S., Harsha, H. C., Pandey, A. and Mukherjee, S. (2013). "Proteomic analysis of human follicular fluid: a new perspective towards understanding folliculogenesis." J Proteomics **87**: 68-77.

Anastacio, A., Broca, O., Golmard, J. L. and Poirot, C. (2012). "[Freezing effects on the in vitro development of mice preantral follicles.]" Gynecol Obstet Fertil.

Aubard, Y., Poirot, C., Piver, P., Galinat, S. and Teissier, M. P. (2001). "Are there indications for ovarian tissue cryopreservation?" Fertil Steril **76**(2): 414-415.

Baker, T. G. (1963). "A Quantitative and Cytological Study of Germ Cells in Human Ovaries." Proc R Soc Lond B Biol Sci **158**: 417-433.

Bayrak, A. and Oktay, K. (2003). "The expression of cyclin-dependent kinase inhibitors p15, p16, p21, and p27 during ovarian follicle growth initiation in the mouse." Reprod Biol Endocrinol **1**: 41.

Berendt, F. J., Frohlich, T., Bolbrinker, P., Boelhauve, M., Gungor, T., Habermann, F. A., Wolf, E. and Arnold, G. J. (2009). "Highly sensitive saturation labeling reveals changes in abundance of cell cycle-associated proteins and redox enzyme variants during oocyte maturation in vitro." Proteomics **9**(3): 550-564.

Bhojwani, M., Rudolph, E., Kanitz, W., Zuehlke, H., Schneider, F. and Tomek, W. (2006). "Molecular analysis of maturation processes by protein and phosphoprotein profiling during in vitro maturation of bovine oocytes: a proteomic approach." Cloning Stem Cells **8**(4): 259-274.

Blume-Jensen, P., Jiang, G., Hyman, R., Lee, K. F., O'Gorman, S. and Hunter, T. (2000). "Kit/stem cell factor receptor-induced activation of phosphatidylinositol 3'-kinase is essential for male fertility." Nat Genet **24**(2): 157-162.

Boland, N. I., Humpherson, P. G., Leese, H. J. and Gosden, R. G. (1993). "Pattern of lactate production and steroidogenesis during growth and maturation of mouse ovarian follicles in vitro." Biol Reprod **48**(4): 798-806.

Bradford, M. M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding." Anal Biochem **72**: 248-254.

Brinkworth, R. I. and Masters, C. J. (1978). "On the localization of lactate dehydrogenase in the ovaries and reproductive tracts of rats and mice." Mech Ageing Dev **8**(5): 299-310.

Bristol-Gould, S. K., Hutten, C. G., Sturgis, C., Kilen, S. M., Mayo, K. E. and Woodruff, T. K. (2005). "The development of a mouse model of ovarian endosalpingiosis." Endocrinology **146**(12): 5228-5236.

Byrd, J. A., Pardue, S. L. and Hargis, B. M. (1993). "Effect of ascorbate on luteinizing hormone stimulated progesterone biosynthesis in chicken granulosa cells in vitro." Comp Biochem Physiol Comp Physiol **104**(2): 279-281.

Calvert, M. E., Digilio, L. C., Herr, J. C. and Coonrod, S. A. (2003). "Oolemmal proteomics--identification of highly abundant heat shock proteins and molecular chaperones in the mature mouse egg and their localization on the plasma membrane." Reprod Biol Endocrinol **1**: 27.

Carabatsos, M. J., Elvin, J., Matzuk, M. M. and Albertini, D. F. (1998). "Characterization of oocyte and follicle development in growth differentiation factor-9-deficient mice." Dev Biol **204**(2): 373-384.

Carroll, J., Whittingham, D. G., Wood, M. J., Telfer, E. and Gosden, R. G. (1990). "Extra-ovarian production of mature viable mouse oocytes from frozen primary follicles." J Reprod Fertil **90**(1): 321-327.

Carroll, J., Whittingham, D. G. and Wood, M. J. (1991a). "Effect of dibutyryl cyclic adenosine monophosphate on granulosa cell proliferation, oocyte growth and meiotic maturation in isolated mouse primary ovarian follicles cultured in collagen gels." J Reprod Fertil **92**(1): 197-207.

Carroll, J., Whittingham, D. G. and Wood, M. J. (1991b). "Effect of gonadotrophin environment on growth and development of isolated mouse primary ovarian follicles." J Reprod Fertil **93**(1): 71-79.

Chehna-Patel, N., Warty, N., Sachdeva, G. and Khole, V. (2011). "Proteolytic tailoring of the heat shock protein 70 and its implications in the pathogenesis of endometriosis." Fertil Steril **95**(5): 1560-1567 e1561-1563.

Chen, J. I., Hannan, N. J., Mak, Y., Nicholls, P. K., Zhang, J., Rainczuk, A., Stanton, P. G., Robertson, D. M., Salamonsen, L. A. and Stephens, A. N. (2009). "Proteomic characterization of midproliferative and midsecretory human endometrium." J Proteome Res **8**(4): 2032-2044.

Choi, W. J., Yeo, H. J., Shin, J. K., Lee, S. A., Lee, J. H. and Paik, W. Y. (2007). "Effect of vitrification method on survivability, follicular growth and ovulation of preantral follicles in mice." J Obstet Gynaecol Res **33**(2): 128-133.

Collado-Fernandez, E., Picton, H. M. and Dumollard, R. (2012). "Metabolism throughout follicle and oocyte development in mammals." Int J Dev Biol **56**(10-12): 799-808.

Coonrod, S. A., Wright, P. W. and Herr, J. C. (2002). "Oolemmal proteomics." J Reprod Immunol **53**(1-2): 55-65.

Coqueret, O. (2002). "Linking cyclins to transcriptional control." Gene **299**(1-2): 35-55.

Cortvrindt, R., Smits, J. and Van Steirteghem, A. C. (1996). "In-vitro maturation, fertilization and embryo development of immature oocytes from early preantral follicles from prepuberal mice in a simplified culture system." Hum Reprod **11**(12): 2656-2666.

Cortvrindt, R. and Smitz, J. (1998). "Early preantral mouse follicle in vitro maturation: oocyte growth, meiotic maturation and granulosa-cell proliferation." Theriogenology **49**(4): 845-859.

Cortvrindt, R. G. and Smitz, J. E. (2002). "Follicle culture in reproductive toxicology: a tool for in-vitro testing of ovarian function?" Hum Reprod Update **8**(3): 243-254.

Deane, H. W. (1952). "Histochemical observations on the ovary and oviduct of the albino rat during the estrous cycle." Am J Anat **91**(3): 363-413.

Deb, G. K., Dey, S. R., Bang, J. I., Lee, J. G. and Kong, I. K. (2012). "9-cis Retinoic acid inhibits cumulus cell apoptosis during the maturation of bovine cumulus-oocyte-complexes." J Anim Sci **90**(6): 1798-1806.

dela Pena, E. C., Takahashi, Y., Katagiri, S., Atabay, E. C. and Nagano, M. (2002). "Birth of pups after transfer of mouse embryos derived from vitrified preantral follicles." Reproduction **123**(4): 593-600.

Demant, M., Trapphoff, T., Fröhlich, T., Arnold, G. J. and Eichenlaub-Ritter, U. (2012). "Vitrification at the pre-antral stage transiently alters inner mitochondrial membrane potential but proteome of in vitro grown and matured mouse oocytes appears unaffected." Hum Reprod **27**(4): 1096-1111.

DeSouza, L., Diehl, G., Rodrigues, M. J., Guo, J., Romaschin, A. D., Colgan, T. J. and Siu, K. W. (2005). "Search for cancer markers from endometrial tissues using differentially labeled tags iTRAQ and cICAT with multidimensional liquid chromatography and tandem mass spectrometry." J Proteome Res **4**(2): 377-386.

Dierich, A., Sairam, M. R., Monaco, L., Fimia, G. M., Gansmuller, A., LeMeur, M. and Sassone-Corsi, P. (1998). "Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(23): 13612-13617.

Dobson, A. T., Raja, R., Abeyta, M. J., Taylor, T., Shen, S., Haqq, C. and Pera, R. A. (2004). "The unique transcriptome through day 3 of human preimplantation development." Hum Mol Genet **13**(14): 1461-1470.

Dominguez, F., Garrido-Gomez, T., Lopez, J. A., Camafeita, E., Quinonero, A., Pellicer, A. and Simon, C. (2009). "Proteomic analysis of the human receptive versus

non-receptive endometrium using differential in-gel electrophoresis and MALDI-MS unveils stathmin 1 and annexin A2 as differentially regulated." Hum Reprod **24**(10): 2607-2617.

Dong, J., Albertini, D. F., Nishimori, K., Kumar, T. R., Lu, N. and Matzuk, M. M. (1996). "Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis." Nature **383**(6600): 531-535.

Dorphin, B., Prades-Borio, M., Anastacio, A., Rojat, P., Coussieu, C. and Poirot, C. (2012). "Secretion profiles from in vitro cultured follicles, isolated from fresh prepubertal and adult mouse ovaries or frozen-thawed prepubertal mouse ovaries." Zygote **20**(2): 181-192.

Downs, S. M., Daniel, S. A., Bornslaeger, E. A., Hoppe, P. C. and Eppig, J. J. (1989). "Maintenance of meiotic arrest in mouse oocytes by purines: modulation of cAMP levels and cAMP phosphodiesterase activity." Gamete Res **23**(3): 323-334.

Duckworth, B. C., Weaver, J. S. and Ruderman, J. V. (2002). "G2 arrest in *Xenopus* oocytes depends on phosphorylation of cdc25 by protein kinase A." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(26): 16794-16799.

Durlinger, A. L., Kramer, P., Karels, B., de Jong, F. H., Uilenbroek, J. T., Grootegoed, J. A. and Themmen, A. P. (1999). "Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary." Endocrinology **140**(12): 5789-5796.

Epifano, O., Liang, L. F., Familari, M., Moos, M. C., Jr. and Dean, J. (1995). "Coordinate expression of the three zona pellucida genes during mouse oogenesis." Development **121**(7): 1947-1956.

Eppig, J. J. (1982). "The relationship between cumulus cell-oocyte coupling, oocyte meiotic maturation, and cumulus expansion." Dev Biol **89**(1): 268-272.

Eppig, J. J. (1989). "The participation of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in the regulation of meiotic maturation of oocytes in the laboratory mouse." J Reprod Fertil Suppl **38**: 3-8.

Eppig, J. J. and Schroeder, A. C. (1989). "Capacity of mouse oocytes from preantral follicles to undergo embryogenesis and development to live young after growth, maturation, and fertilization in vitro." Biol Reprod **41**(2): 268-276.

Eppig, J. J. (1991). "Intercommunication between mammalian oocytes and companion somatic cells." Bioessays **13**(11): 569-574.

Eppig, J. J. and O'Brien, M. J. (1996). "Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles." Biol Reprod **54**(1): 197-207.

Faddy, M. J., Gosden, R. G., Gougeon, A., Richardson, S. J. and Nelson, J. F. (1992). "Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause." Hum Reprod **7**(10): 1342-1346.

Fauser, B. C., Rutherford, A., Strauss, J. and Van Steirteghem, A. (1999). Molecular biology in reproductive medicine, Parthenon Publishing Group.

Fehrenbach, A., Nusse, N. and Nayudu, P. L. (1998). "Patterns of growth, oestradiol and progesterone released by in vitro cultured mouse ovarian follicles indicate consecutive selective events during follicle development." J Reprod Fertil **113**(2): 287-297.

Fero, M. L., Rivkin, M., Tasch, M., Porter, P., Carow, C. E., Firpo, E., Polyak, K., Tsai, L. H., Broudy, V., Perlmutter, R. M., Kaushansky, K. and Roberts, J. M. (1996). "A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis, and female sterility in p27(Kip1)-deficient mice." Cell **85**(5): 733-744.

Fowler, P. A., Tattum, J., Bhattacharya, S., Klonisch, T., Hombach-Klonisch, S., Gazvani, R., Lea, R. G., Miller, I., Simpson, W. G. and Cash, P. (2007). "An investigation of the effects of endometriosis on the proteome of human eutopic endometrium: a heterogeneous tissue with a complex disease." Proteomics **7**(1): 130-142.

Gomes, J. E., Correia, S. C., Gouveia-Oliveira, A., Cidadao, A. J. and Plancha, C. E. (1999). "Three-dimensional environments preserve extracellular matrix compartments of ovarian follicles and increase FSH-dependent growth." Mol Reprod Dev **54**(2): 163-172.

Gougeon, A. (1986). "Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results." Hum Reprod **1**(2): 81-87.

Gougeon, A. (2010). "Human ovarian follicular development: from activation of resting follicles to preovulatory maturation." Ann Endocrinol (Paris) **71**(3): 132-143.

Griffin, J., Emery, B. R., Huang, I., Peterson, C. M. and Carrell, D. T. (2006). "Comparative analysis of follicle morphology and oocyte diameter in four mammalian species (mouse, hamster, pig, and human)." J Exp Clin Assist Reprod **3**: 2.

Grondahl, C., Hyttel, P., Grondahl, M. L., Eriksen, T., Gotfredsen, P. and Greve, T. (1995). "Structural and endocrine aspects of equine oocyte maturation in vivo." Mol Reprod Dev **42**(1): 94-105.

Han, S. J. and Conti, M. (2006). "New pathways from PKA to the Cdc2/cyclin B complex in oocytes: Wee1B as a potential PKA substrate." Cell Cycle **5**(3): 227-231.

Harris, S. E., Adriaens, I., Leese, H. J., Gosden, R. G. and Picton, H. M. (2007). "Carbohydrate metabolism by murine ovarian follicles and oocytes grown in vitro." Reproduction **134**(3): 415-424.

Hartshorne, G. M. (1997). "In vitro culture of ovarian follicles." Rev Reprod **2**(2): 94-104.

He, H., Teng, H., Zhou, T., Guo, Y., Wang, G., Lin, M., Sun, Y., Si, W., Zhou, Z., Guo, X. and Huo, R. (2014). "Unravelling the proteome of adult rhesus monkey ovaries." Mol Biosyst.

Hirao, Y. (2011). "Conditions affecting growth and developmental competence of mammalian oocytes in vitro." Anim Sci J **82**(2): 187-197.

Hovatta, O., Silye, R., Abir, R., Krausz, T. and Winston, R. M. (1997). "Extracellular matrix improves survival of both stored and fresh human primordial and primary ovarian follicles in long-term culture." Hum Reprod **12**(5): 1032-1036.

Hovatta, O., Wright, C., Krausz, T., Hardy, K. and Winston, R. M. (1999). "Human primordial, primary and secondary ovarian follicles in long-term culture: effect of partial isolation." Hum Reprod **14**(10): 2519-2524.

Hreinsson, J. G., Scott, J. E., Rasmussen, C., Swahn, M. L., Hsueh, A. J. and Hovatta, O. (2002). "Growth differentiation factor-9 promotes the growth, development, and survival of human ovarian follicles in organ culture." J Clin Endocrinol Metab **87**(1): 316-321.

Imamichi, Y., Mizutani, T., Ju, Y., Matsumura, T., Kawabe, S., Kanno, M., Yazawa, T. and Miyamoto, K. (2013). "Transcriptional regulation of human ferredoxin 1 in ovarian granulosa cells." Mol Cell Endocrinol **370**(1-2): 1-10.

Ito, M., Harada, T., Tanikawa, M., Fujii, A., Shiota, G. and Terakawa, N. (2001). "Hepatocyte growth factor and stem cell factor involvement in paracrine interplays of theca and granulosa cells in the human ovary." Fertil Steril **75**(5): 973-979.

Joshi, S., Davies, H., Sims, L. P., Levy, S. E. and Dean, J. (2007). "Ovarian gene expression in the absence of FIGLA, an oocyte-specific transcription factor." BMC Dev Biol **7**: 67.

Kaipia, A. and Hsueh, A. J. (1997). "Regulation of ovarian follicle atresia." Annu Rev Physiol **59**: 349-363.

Kerjean, A., Couvert, P., Heams, T., Chalas, C., Poirier, K., Chelly, J., Jouannet, P., Paldi, A. and Poirot, C. (2003). "In vitro follicular growth affects oocyte imprinting establishment in mice." Eur J Hum Genet **11**(7): 493-496.

Kikuchi, K., Ekwall, H., Tienthai, P., Kawai, Y., Noguchi, J., Kaneko, H. and Rodriguez-Martinez, H. (2002). "Morphological features of lipid droplet transition during porcine oocyte fertilisation and early embryonic development to blastocyst in vivo and in vitro." Zygote **10**(4): 355-366.

Kim, J. Y. (2012). "Control of ovarian primordial follicle activation." Clin Exp Reprod Med **39**(1): 10-14.

Kinuta, K., Tanaka, H., Moriwake, T., Aya, K., Kato, S. and Seino, Y. (2000). "Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads." Endocrinology **141**(4): 1317-1324.

Kiyokawa, H., Kineman, R. D., Manova-Todorova, K. O., Soares, V. C., Hoffman, E. S., Ono, M., Khanam, D., Hayday, A. C., Frohman, L. A. and Koff, A. (1996). "Enhanced growth of mice lacking the cyclin-dependent kinase inhibitor function of p27(Kip1)." Cell **85**(5): 721-732.

Kol, S. and Adashi, E. Y. (1995). "Intraovarian factors regulating ovarian function." Curr Opin Obstet Gynecol **7**(3): 209-213.

Laissue, P., Christin-Maitre, S., Touraine, P., Kuttann, F., Ritvos, O., Aittomaki, K., Bourcigaux, N., Jacquesson, L., Bouchard, P., Frydman, R., Dewailly, D., Reyss, A.

- C., Jeffery, L., Bachelot, A., Massin, N., Fellous, M. and Veitia, R. A. (2006). "Mutations and sequence variants in GDF9 and BMP15 in patients with premature ovarian failure." Eur J Endocrinol **154**(5): 739-744.
- Lass, A., Silye, R., Abrams, D. C., Krausz, T., Hovatta, O., Margara, R. and Winston, R. M. (1997). "Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve." Hum Reprod **12**(5): 1028-1031.
- Lefevre, B., Pesty, A., Courtot, A. M., Martins, C. V., Broca, O., Denys, A., Arnault, E., Poirot, C. and Avazeri, N. (2007). "The phosphoinositide-phospholipase C (PI-PLC) pathway in the mouse oocyte." Crit Rev Eukaryot Gene Expr **17**(4): 259-269.
- Li, L., Baibakov, B. and Dean, J. (2008). "A subcortical maternal complex essential for preimplantation mouse embryogenesis." Dev Cell **15**(3): 416-425.
- Li, R., Phillips, D. M. and Mather, J. P. (1995). "Activin promotes ovarian follicle development in vitro." Endocrinology **136**(3): 849-856.
- Li, S. S., Liu, Y. H., Tseng, C. N. and Singh, S. (2006). "Analysis of gene expression in single human oocytes and preimplantation embryos." Biochem Biophys Res Commun **340**(1): 48-53.
- Liang, L., Soyal, S. M. and Dean, J. (1997). "FIGalpha, a germ cell specific transcription factor involved in the coordinate expression of the zona pellucida genes." Development **124**(24): 4939-4947.
- Liebler, D. C. (2002). Introduction to proteomics : tools for the new biology. Totowa, NJ, Humana Press.
- Liu, H. C., He, Z. and Rosenwaks, Z. (2002). "In vitro culture and in vitro maturation of mouse preantral follicles with recombinant gonadotropins." Fertil Steril **77**(2): 373-383.
- Liu, J., Van der Elst, J., Van den Broecke, R. and Dhont, M. (2001). "Live offspring by in vitro fertilization of oocytes from cryopreserved primordial mouse follicles after sequential in vivo transplantation and in vitro maturation." Biol Reprod **64**(1): 171-178.
- Liu, K., Rajareddy, S., Liu, L., Jagarlamudi, K., Boman, K., Selstam, G. and Reddy, P. (2006). "Control of mammalian oocyte growth and early follicular development by the oocyte PI3 kinase pathway: new roles for an old timer." Dev Biol **299**(1): 1-11.

Liu, Z., Rudd, M. D., Hernandez-Gonzalez, I., Gonzalez-Robayna, I., Fan, H. Y., Zeleznik, A. J. and Richards, J. S. (2009). "FSH and FOXO1 regulate genes in the sterol/steroid and lipid biosynthetic pathways in granulosa cells." Mol Endocrinol **23**(5): 649-661.

Liu, Z., Castrillon, D. H., Zhou, W. and Richards, J. S. (2013). "FOXO1/3 depletion in granulosa cells alters follicle growth, death and regulation of pituitary FSH." Mol Endocrinol **27**(2): 238-252.

Luberda, Z. (2005). "The role of glutathione in mammalian gametes." Reprod Biol **5**(1): 5-17.

Ma, M., Guo, X., Wang, F., Zhao, C., Liu, Z., Shi, Z., Wang, Y., Zhang, P., Zhang, K., Wang, N., Lin, M., Zhou, Z., Liu, J., Li, Q., Wang, L., Huo, R., Sha, J. and Zhou, Q. (2008). "Protein expression profile of the mouse metaphase-II oocyte." J Proteome Res **7**(11): 4821-4830.

Ma, X., Fan, L., Meng, Y., Hou, Z., Mao, Y. D., Wang, W., Ding, W. and Liu, J. Y. (2007). "Proteomic analysis of human ovaries from normal and polycystic ovarian syndrome." Mol Hum Reprod **13**(8): 527-535.

Mainigi, M. A., Ord, T. and Schultz, R. M. (2011). "Meiotic and developmental competence in mice are compromised following follicle development in vitro using an alginate-based culture system." Biol Reprod **85**(2): 269-276.

Matzuk, M. M., Burns, K. H., Viveiros, M. M. and Eppig, J. J. (2002). "Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation." Science **296**(5576): 2178-2180.

McLaughlin, E. A. and McIver, S. C. (2009). "Awakening the oocyte: controlling primordial follicle development." Reproduction **137**(1): 1-11.

McLaughlin, M. and Telfer, E. E. (2010). "Oocyte development in bovine primordial follicles is promoted by activin and FSH within a two-step serum-free culture system." Reproduction **139**(6): 971-978.

McMullen, M. L., Cho, B. N., Yates, C. J. and Mayo, K. E. (2001). "Gonadal pathologies in transgenic mice expressing the rat inhibin alpha-subunit." Endocrinology **142**(11): 5005-5014.

Mehlmann, L. M. (2005). "Stops and starts in mammalian oocytes: recent advances in understanding the regulation of meiotic arrest and oocyte maturation." Reproduction **130**(6): 791-799.

Meirow, D., Hardan, I., Dor, J., Fridman, E., Elizur, S., Ra'anani, H., Slyusarevsky, E., Amariglio, N., Schiff, E., Rechavi, G., Nagler, A. and Ben Yehuda, D. (2008). "Searching for evidence of disease and malignant cell contamination in ovarian tissue stored from hematologic cancer patients." Hum Reprod **23**(5): 1007-1013.

Memili, E., Peddinti, D., Shack, L. A., Nanduri, B., McCarthy, F., Sagirkaya, H. and Burgess, S. C. (2007). "Bovine germinal vesicle oocyte and cumulus cell proteomics." Reproduction **133**(6): 1107-1120.

Meng, Y., Liu, X. H., Ma, X., Shen, Y., Fan, L., Leng, J., Liu, J. Y. and Sha, J. H. (2007). "The protein profile of mouse mature cumulus-oocyte complex." Biochim Biophys Acta **1774**(11): 1477-1490.

Miller, W. L. (2005). "Minireview: regulation of steroidogenesis by electron transfer." Endocrinology **146**(6): 2544-2550.

Motta, P. M. and Makabe, S. (1986). "Germ cells in the ovarian surface during fetal development in humans. A three-dimensional microanatomical study by scanning and transmission electron microscopy." J Submicrosc Cytol **18**(2): 271-290.

Mousset-Simeon, N., Jouannet, P., Le Cointre, L., Coussieu, C. and Poirot, C. (2005). "Comparison of three in vitro culture systems for maturation of early preantral mouse ovarian follicles." Zygote **13**(2): 167-175.

Murray, A. A., Molinek, M. D., Baker, S. J., Kojima, F. N., Smith, M. F., Hillier, S. G. and Spears, N. (2001). "Role of ascorbic acid in promoting follicle integrity and survival in intact mouse ovarian follicles in vitro." Reproduction **121**(1): 89-96.

Nakayama, K., Ishida, N., Shirane, M., Inomata, A., Inoue, T., Shishido, N., Horii, I., Loh, D. Y. and Nakayama, K. (1996). "Mice lacking p27(Kip1) display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors." Cell **85**(5): 707-720.

Nayudu, P. L. and Osborn, S. M. (1992). "Factors influencing the rate of preantral and antral growth of mouse ovarian follicles in vitro." J Reprod Fertil **95**(2): 349-362.

- Neilson, L., Andalibi, A., Kang, D., Coutifaris, C., Strauss, J. F., 3rd, Stanton, J. A. and Green, D. P. (2000). "Molecular phenotype of the human oocyte by PCR-SAGE." Genomics **63**(1): 13-24.
- Nilsson, E., Parrott, J. A. and Skinner, M. K. (2001). "Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis." Mol Cell Endocrinol **175**(1-2): 123-130.
- Nilsson, E., Rogers, N. and Skinner, M. K. (2007). "Actions of anti-Mullerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition." Reproduction **134**(2): 209-221.
- Nilsson, E. E., Detzel, C. and Skinner, M. K. (2006). "Platelet-derived growth factor modulates the primordial to primary follicle transition." Reproduction **131**(6): 1007-1015.
- O'Brien, M. J., Pendola, J. K. and Eppig, J. J. (2003). "A revised protocol for in vitro development of mouse oocytes from primordial follicles dramatically improves their developmental competence." Biol Reprod **68**(5): 1682-1686.
- O'Shaughnessy, P. J., Dudley, K. and Rajapaksha, W. R. (1996). "Expression of follicle stimulating hormone-receptor mRNA during gonadal development." Mol Cell Endocrinol **125**(1-2): 169-175.
- Oktay, K., Briggs, D. and Gosden, R. G. (1997a). "Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles." J Clin Endocrinol Metab **82**(11): 3748-3751.
- Oktay, K., Nugent, D., Newton, H., Salha, O., Chatterjee, P. and Gosden, R. G. (1997b). "Isolation and characterization of primordial follicles from fresh and cryopreserved human ovarian tissue." Fertil Steril **67**(3): 481-486.
- Otsuka, F., Yao, Z., Lee, T., Yamamoto, S., Erickson, G. F. and Shimasaki, S. (2000). "Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions." J Biol Chem **275**(50): 39523-39528.
- Ozkan, S., Jindal, S., Greenseid, K., Shu, J., Zeitlian, G., Hickmon, C. and Pal, L. (2010). "Replete vitamin D stores predict reproductive success following in vitro fertilization." Fertil Steril **94**(4): 1314-1319.

Pangas, S. A., Saudye, H., Shea, L. D. and Woodruff, T. K. (2003). "Novel approach for the three-dimensional culture of granulosa cell-oocyte complexes." Tissue Eng **9**(5): 1013-1021.

Pangas, S. A., Choi, Y., Ballow, D. J., Zhao, Y., Westphal, H., Matzuk, M. M. and Rajkovic, A. (2006). "Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators *Sohlh1* and *Lhx8*." Proc Natl Acad Sci U S A **103**(21): 8090-8095.

Park, J. Y., Su, Y. Q., Ariga, M., Law, E., Jin, S. L. and Conti, M. (2004). "EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle." Science **303**(5658): 682-684.

Park, Y., Maizels, E. T., Feiger, Z. J., Alam, H., Peters, C. A., Woodruff, T. K., Unterman, T. G., Lee, E. J., Jameson, J. L. and Hunzicker-Dunn, M. (2005). "Induction of cyclin D2 in rat granulosa cells requires FSH-dependent relief from FOXO1 repression coupled with positive signals from Smad." J Biol Chem **280**(10): 9135-9148.

Parmar, T., Gadkar-Sable, S., Savardekar, L., Katkam, R., Dharma, S., Meherji, P., Puri, C. P. and Sachdeva, G. (2009). "Protein profiling of human endometrial tissues in the midsecretory and proliferative phases of the menstrual cycle." Fertil Steril **92**(3): 1091-1103.

Parrott, J. A., Vigne, J. L., Chu, B. Z. and Skinner, M. K. (1994). "Mesenchymal-epithelial interactions in the ovarian follicle involve keratinocyte and hepatocyte growth factor production by thecal cells and their action on granulosa cells." Endocrinology **135**(2): 569-575.

Peddinti, D., Memili, E. and Burgess, S. C. (2010). "Proteomics-based systems biology modeling of bovine germinal vesicle stage oocyte and cumulus cell interaction." PLoS One **5**(6): e11240.

Pepling, M. E. and Spradling, A. C. (2001). "Mouse ovarian germ cell cysts undergo programmed breakdown to form primordial follicles." Dev Biol **234**(2): 339-351.

Pesty, A., Miyara, F., Debey, P., Lefevre, B. and Poirot, C. (2007). "Multiparameter assessment of mouse oogenesis during follicular growth in vitro." Mol Hum Reprod **13**(1): 3-9.

Pesty, A., Broca, O., Poirot, C. and Lefevre, B. (2008). "The role of PLC beta 1 in the control of oocyte meiosis during folliculogenesis." Reprod Sci **15**(7): 661-672.

Pfeiffer, M. J., Siatkowski, M., Paudel, Y., Balbach, S. T., Baeumer, N., Crosetto, N., Drexler, H. C., Fuellen, G. and Boiani, M. (2011). "Proteomic analysis of mouse oocytes reveals 28 candidate factors of the "reprogrammome"." J Proteome Res **10**(5): 2140-2153.

Picton, H., Briggs, D. and Gosden, R. (1998). "The molecular basis of oocyte growth and development." Mol Cell Endocrinol **145**(1-2): 27-37.

Picton, H. M. and Gosden, R. G. (2000). "In vitro growth of human primordial follicles from frozen-banked ovarian tissue." Mol Cell Endocrinol **166**(1): 27-35.

Picton, H. M., Danfour, M. A., Harris, S. E., Chambers, E. L. and Huntriss, J. (2003). "Growth and maturation of oocytes in vitro." Reprod Suppl **61**: 445-462.

Picton, H. M., Harris, S. E., Muruvi, W. and Chambers, E. L. (2008). "The in vitro growth and maturation of follicles." Reproduction **136**(6): 703-715.

Poirot, C., Brugieres, L., Genestie, C. and Martelli, H. (2005). "[Ovarian tissue cryopreservation for prepubertal girls: indications and feasibility]." Gynecol Obstet Fertil **33**(10): 799-803.

Poirot, C. J., Martelli, H., Genestie, C., Golmard, J. L., Valteau-Couanet, D., Helardot, P., Pacquement, H., Sauvat, F., Tabone, M. D., Philippe-Chomette, P., Esperou, H., Baruchel, A. and Brugieres, L. (2007). "Feasibility of ovarian tissue cryopreservation for prepubertal females with cancer." Pediatr Blood Cancer **49**(1): 74-78.

Prieto, L., Quesada, J. F., Cambero, O., Pacheco, A., Pellicer, A., Codoceo, R. and Garcia-Velasco, J. A. (2012). "Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis." Fertil Steril **98**(1): 126-130.

Rai, P., Kota, V., Sundaram, C. S., Deendayal, M. and Shivaji, S. (2010). "Proteome of human endometrium: Identification of differentially expressed proteins in proliferative and secretory phase endometrium." Proteomics Clin Appl **4**(1): 48-59.

Rajareddy, S., Reddy, P., Du, C., Liu, L., Jagarlamudi, K., Tang, W., Shen, Y., Berthet, C., Peng, S. L., Kaldis, P. and Liu, K. (2007). "p27kip1 (cyclin-dependent

kinase inhibitor 1B) controls ovarian development by suppressing follicle endowment and activation and promoting follicle atresia in mice." Mol Endocrinol **21**(9): 2189-2202.

Rajkovic, A., Pangas, S. A., Ballow, D., Suzumori, N. and Matzuk, M. M. (2004). "NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression." Science **305**(5687): 1157-1159.

Reddy, P., Shen, L., Ren, C., Boman, K., Lundin, E., Ottander, U., Lindgren, P., Liu, Y. X., Sun, Q. Y. and Liu, K. (2005). "Activation of Akt (PKB) and suppression of FKHRL1 in mouse and rat oocytes by stem cell factor during follicular activation and development." Dev Biol **281**(2): 160-170.

Reddy, P., Adhikari, D., Zheng, W., Liang, S., Hamalainen, T., Tohonen, V., Ogawa, W., Noda, T., Volarevic, S., Huhtaniemi, I. and Liu, K. (2009). "PDK1 signaling in oocytes controls reproductive aging and lifespan by manipulating the survival of primordial follicles." Hum Mol Genet **18**(15): 2813-2824.

Reynolds, L. P., Killilea, S. D. and Redmer, D. A. (1992). "Angiogenesis in the female reproductive system." FASEB J **6**(3): 886-892.

Robker, R. L. and Richards, J. S. (1998). "Hormone-induced proliferation and differentiation of granulosa cells: a coordinated balance of the cell cycle regulators cyclin D2 and p27Kip1." Mol Endocrinol **12**(7): 924-940.

Roller, R. J., Kinloch, R. A., Hiraoka, B. Y., Li, S. S. and Wassarman, P. M. (1989). "Gene expression during mammalian oogenesis and early embryogenesis: quantification of three messenger RNAs abundant in fully grown mouse oocytes." Development **106**(2): 251-261.

Roy, S. K. (1993). "Epidermal growth factor and transforming growth factor-beta modulation of follicle-stimulating hormone-induced deoxyribonucleic acid synthesis in hamster preantral and early antral follicles." Biol Reprod **48**(3): 552-557.

Roy, S. K. and Treacy, B. J. (1993). "Isolation and long-term culture of human preantral follicles." Fertil Steril **59**(4): 783-790.

Sadeu, J. C., Cortvrindt, R., Ron-El, R., Kasterstein, E. and Smitz, J. (2006). "Morphological and ultrastructural evaluation of cultured frozen-thawed human fetal ovarian tissue." Fertil Steril **85 Suppl 1**: 1130-1141.

Sanchez, F. and Smitz, J. (2012). "Molecular control of oogenesis." Biochim Biophys Acta **1822**(12): 1896-1912.

Schmidt, D., Ovitt, C. E., Anlag, K., Fehsenfeld, S., Gredsted, L., Treier, A. C. and Treier, M. (2004). "The murine winged-helix transcription factor Foxl2 is required for granulosa cell differentiation and ovary maintenance." Development **131**(4): 933-942.

Schwartz, G. K. and Shah, M. A. (2005). "Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy." J Clin Oncol **23**(36): 9408-9421.

Scotchie, J. G., Fritz, M. A., Mocanu, M., Lessey, B. A. and Young, S. L. (2009). "Proteomic analysis of the luteal endometrial secretome." Reprod Sci **16**(9): 883-893.

Sela-Abramovich, S., Edry, I., Galiani, D., Nevo, N. and Dekel, N. (2006). "Disruption of gap junctional communication within the ovarian follicle induces oocyte maturation." Endocrinology **147**(5): 2280-2286.

Sherr, C. J. (1994). "G1 phase progression: cycling on cue." Cell **79**(4): 551-555.

Shi, F. and LaPolt, P. S. (2003). "Relationship between FoxO1 protein levels and follicular development, atresia, and luteinization in the rat ovary." J Endocrinol **179**(2): 195-203.

Shikanov, A., Xu, M., Woodruff, T. K. and Shea, L. D. (2009). "Interpenetrating fibrin-alginate matrices for in vitro ovarian follicle development." Biomaterials **30**(29): 5476-5485.

Shikanov, A., Xu, M., Woodruff, T. K. and Shea, L. D. (2011). "A method for ovarian follicle encapsulation and culture in a proteolytically degradable 3 dimensional system." J Vis Exp(49).

Shimizu, T., Hirai, Y. and Miyamoto, A. (2013). "Expression of cyclins and cyclin-dependent kinase inhibitors in granulosa cells from bovine ovary." Reprod Domest Anim **48**(5): e65-69.

Skinner, M. K. (2005). "Regulation of primordial follicle assembly and development." Hum Reprod Update **11**(5): 461-471.

Smitz, J. and Cortvrindt, R. (1998). "Inhibin A and B secretion in mouse preantral follicle culture." Hum Reprod **13**(4): 927-935.

Smitz, J., Dolmans, M. M., Donnez, J., Fortune, J. E., Hovatta, O., Jewgenow, K., Picton, H. M., Plancha, C., Shea, L. D., Stouffer, R. L., Telfer, E. E., Woodruff, T. K. and Zelinski, M. B. (2010). "Current achievements and future research directions in ovarian tissue culture, in vitro follicle development and transplantation: implications for fertility preservation." Hum Reprod Update **16**(4): 395-414.

Soyal, S. M., Amleh, A. and Dean, J. (2000). "FIGalpha, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation." Development **127**(21): 4645-4654.

Sun, F., Betzendahl, I., Shen, Y., Cortvrindt, R., Smitz, J. and Eichenlaub-Ritter, U. (2004). "Preantral follicle culture as a novel in vitro assay in reproductive toxicology testing in mammalian oocytes." Mutagenesis **19**(1): 13-25.

Sun, W., Xie, H., Ji, J., Zhou, X., Goltzman, D. and Miao, D. (2010). "Defective female reproductive function in 1,25(OH)₂D-deficient mice results from indirect effect mediated by extracellular calcium and/or phosphorus." Am J Physiol Endocrinol Metab **299**(6): E928-935.

Talebi, A., Zavareh, S., Kashani, M. H., Lashgarbluki, T. and Karimi, I. (2012). "The effect of alpha lipoic acid on the developmental competence of mouse isolated preantral follicles." J Assist Reprod Genet **29**(2): 175-183.

Tarnawa, E. D., Baker, M. D., Aloisio, G. M., Carr, B. R. and Castrillon, D. H. (2013). "Gonadal expression of Foxo1, but not Foxo3, is conserved in diverse Mammalian species." Biol Reprod **88**(4): 103.

te Velde, E. R., Scheffer, G. J., Dorland, M., Broekmans, F. J. and Fauser, B. C. (1998). "Developmental and endocrine aspects of normal ovarian aging." Mol Cell Endocrinol **145**(1-2): 67-73.

Telfer, E. E., Binnie, J. P., McCaffery, F. H. and Campbell, B. K. (2000). "In vitro development of oocytes from porcine and bovine primary follicles." Mol Cell Endocrinol **163**(1-2): 117-123.

Telfer, E. E., McLaughlin, M., Ding, C. and Thong, K. J. (2008). "A two-step serum-free culture system supports development of human oocytes from primordial follicles in the presence of activin." Hum Reprod **23**(5): 1151-1158.

Telfer, E. E. and Zelinski, M. B. (2013). "Ovarian follicle culture: advances and challenges for human and nonhuman primates." Fertil Steril **99**(6): 1523-1533.

Ten Have, S., Fraser, I., Markham, R., Lam, A. and Matsumoto, I. (2007). "Proteomic analysis of protein expression in the eutopic endometrium of women with endometriosis." Proteomics Clin Appl **1**(10): 1243-1251.

Thibault, C. and Levasseur, M.-C. (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme, Editions Quae.

Tingen, C., Kim, A. and Woodruff, T. K. (2009). "The primordial pool of follicles and nest breakdown in mammalian ovaries." Mol Hum Reprod **15**(12): 795-803.

Torrance, C., Telfer, E. and Gosden, R. G. (1989). "Quantitative study of the development of isolated mouse pre-antral follicles in collagen gel culture." J Reprod Fertil **87**(1): 367-374.

Uda, M., Ottolenghi, C., Crisponi, L., Garcia, J. E., Deiana, M., Kimber, W., Forabosco, A., Cao, A., Schlessinger, D. and Pilia, G. (2004). "Foxl2 disruption causes mouse ovarian failure by pervasive blockage of follicle development." Hum Mol Genet **13**(11): 1171-1181.

Upadhyay, R. D., Balasinor, N. H., Kumar, A. V., Sachdeva, G., Parte, P. and Dumasia, K. (2013). "Proteomics in reproductive biology: beacon for unraveling the molecular complexities." Biochim Biophys Acta **1834**(1): 8-15.

van den Hurk, R. and Zhao, J. (2005). "Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles." Theriogenology **63**(6): 1717-1751.

Vanderhyden, B. C., Telfer, E. E. and Eppig, J. J. (1992). "Mouse oocytes promote proliferation of granulosa cells from preantral and antral follicles in vitro." Biol Reprod **46**(6): 1196-1204.

Vanhoutte, L., Nogueira, D., Dumortier, F. and De Sutter, P. (2009). "Assessment of a new in vitro maturation system for mouse and human cumulus-enclosed oocytes:

three-dimensional prematuration culture in the presence of a phosphodiesterase 3-inhibitor." Hum Reprod **24**(8): 1946-1959.

Vitale, A. M., Calvert, M. E., Mallavarapu, M., Yurttas, P., Perlin, J., Herr, J. and Coonrod, S. (2007). "Proteomic profiling of murine oocyte maturation." Mol Reprod Dev **74**(5): 608-616.

Vitt, U. A., Kloosterboer, H. J., Rose, U. M., Mulders, J. W., Kiesel, P. S., Bete, S. and Nayudu, P. L. (1998). "Isoforms of human recombinant follicle-stimulating hormone: comparison of effects on murine follicle development in vitro." Biol Reprod **59**(4): 854-861.

Wandji, S. A., Srsen, V., Voss, A. K., Eppig, J. J. and Fortune, J. E. (1996). "Initiation in vitro of growth of bovine primordial follicles." Biol Reprod **55**(5): 942-948.

Wang, S., Kou, Z., Jing, Z., Zhang, Y., Guo, X., Dong, M., Wilmut, I. and Gao, S. (2010). "Proteome of mouse oocytes at different developmental stages." Proc Natl Acad Sci U S A **107**(41): 17639-17644.

West, E. R., Shea, L. D. and Woodruff, T. K. (2007a). "Engineering the follicle microenvironment." Semin Reprod Med **25**(4): 287-299.

West, E. R., Xu, M., Woodruff, T. K. and Shea, L. D. (2007b). "Physical properties of alginate hydrogels and their effects on in vitro follicle development." Biomaterials **28**(30): 4439-4448.

Winger, Q. A., Hill, J. R., Shin, T., Watson, A. J., Kraemer, D. C. and Westhusin, M. E. (2000). "Genetic reprogramming of lactate dehydrogenase, citrate synthase, and phosphofructokinase mRNA in bovine nuclear transfer embryos produced using bovine fibroblast cell nuclei." Mol Reprod Dev **56**(4): 458-464.

Wojtusik, J. and Johnson, P. A. (2012). "Vitamin D regulates anti-Mullerian hormone expression in granulosa cells of the hen." Biol Reprod **86**(3): 91.

Wright, C. S., Hovatta, O., Margara, R., Trew, G., Winston, R. M., Franks, S. and Hardy, K. (1999). "Effects of follicle-stimulating hormone and serum substitution on the in-vitro growth of human ovarian follicles." Hum Reprod **14**(6): 1555-1562.

Wright, P. W., Bolling, L. C., Calvert, M. E., Sarmiento, O. F., Berkeley, E. V., Shea, M. C., Hao, Z., Jayes, F. C., Bush, L. A., Shetty, J., Shore, A. N., Reddi, P. P., Tung,

K. S., Samy, E., Allietta, M. M., Sherman, N. E., Herr, J. C. and Coonrod, S. A. (2003). "ePAD, an oocyte and early embryo-abundant peptidylarginine deiminase-like protein that localizes to egg cytoplasmic sheets." Dev Biol **256**(1): 73-88.

Xu, M., Kreeger, P. K., Shea, L. D. and Woodruff, T. K. (2006a). "Tissue-engineered follicles produce live, fertile offspring." Tissue Eng **12**(10): 2739-2746.

Xu, M., West, E., Shea, L. D. and Woodruff, T. K. (2006b). "Identification of a stage-specific permissive in vitro culture environment for follicle growth and oocyte development." Biol Reprod **75**(6): 916-923.

Xu, M., Barrett, S. L., West-Farrell, E., Kondapalli, L. A., Kiesewetter, S. E., Shea, L. D. and Woodruff, T. K. (2009). "In vitro grown human ovarian follicles from cancer patients support oocyte growth." Hum Reprod **24**(10): 2531-2540.

Yokota, H., Yamada, K., Liu, X., Kobayashi, J., Abe, Y., Mizunuma, H. and Ibuki, Y. (1997). "Paradoxical action of activin A on folliculogenesis in immature and adult mice." Endocrinology **138**(11): 4572-4576.

Zhang, D. X., Li, X. P., Sun, S. C., Shen, X. H., Cui, X. S. and Kim, N. H. (2010). "Involvement of ER-calreticulin-Ca²⁺ signaling in the regulation of porcine oocyte meiotic maturation and maternal gene expression." Mol Reprod Dev **77**(5): 462-471.

Zhang, H., Niu, Y., Feng, J., Guo, H., Ye, X. and Cui, H. (2006). "Use of proteomic analysis of endometriosis to identify different protein expression in patients with endometriosis versus normal controls." Fertil Steril **86**(2): 274-282.

Zhang, P., Ni, X., Guo, Y., Guo, X., Wang, Y., Zhou, Z., Huo, R. and Sha, J. (2009). "Proteomic-based identification of maternal proteins in mature mouse oocytes." BMC Genomics **10**: 348.

Zhao, J., Taverne, M. A., van der Weijden, G. C., Bevers, M. M. and van den Hurk, R. (2001). "Effect of activin A on in vitro development of rat preantral follicles and localization of activin A and activin receptor II." Biol Reprod **65**(3): 967-977.

Zheng, W., Nagaraju, G., Liu, Z. and Liu, K. (2012). "Functional roles of the phosphatidylinositol 3-kinases (PI3Ks) signaling in the mammalian ovary." Mol Cell Endocrinol **356**(1-2): 24-30.

VII. Annexes

Tableau I en annexe : Liste des protéines identifiées pour les trois stades de développement utilisant le comparateur de données XTandem. "**log (e-value)**" est la valeur statistique de la probabilité qu'une protéine a d'être identifiée au hasard, et il est le produit des e-values des peptides uniques identifiés dans chaque protéine. Les protéines validées ont un log e-value < -2,5. "**Spectres**" correspond au nombre de spectres que l'analyse MS/MS a identifié pour chaque protéine. "**Pep Specif Uniq**" correspond au nombre de peptides spécifiques à la protéine identifiée par rapport aux protéines identifiées du même groupe. "**Pep Uniq**" correspond au nombre de séquences peptidiques identifiés pour chaque protéine éliminant les répétitions.

			IS						RMS						FA						
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine	Poid	Spectres	Pep	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine	Poid	Spectres	Pep	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine	Poid	Spectres	Pep	Pep Uniq	Pep Uniq
				Couverte	Moléculaire (KDa)		Spécif Uniq			Couverte	Moléculaire (KDa)		Spécif Uniq			Couverte	Moléculaire (KDa)		Spécif Uniq		
P20029	78 kDa glucose-regulated protein	<i>Hspa5</i>	-159,3	41,0	72,3	409	25	28	-214,6	48,0	72,3	1316	32	36	-214,6	48,0	72,3	1316	32	36	
P63017	Heat shock cognate 71 kDa protein	<i>Hspa8</i>	-155,5	48,0	70,7	539	25	31	-186,1	53,0	70,7	949	26	33	-181,0	51,0	70,7	793	20	31	
P17879	Heat shock 70 kDa protein 1B	<i>Hspa1b</i>	-41,4	17,0	70,0	138	2	8	-60,8	24,0	70,0	230	6	13	-72,5	26,0	70,0	208	5	14	
P63260	Actin, cytoplasmic 2	<i>Actg1</i>	-102,7	53,0	41,7	493	1	20	-130,6	63,0	41,7	943	2	24	-134,3	67,0	41,7	1119	13	28	
P68134	Actin, alpha skeletal muscle	<i>Acta1</i>	-41,8	33,0	41,9	245	4	13	-69,2	48,0	41,9	525	2	18	-67,2	44,0	41,9	549	1	18	
Q88FZ3	Beta-actin-like protein 2	<i>Actbl2</i>	-32,3	19,0	41,9	208	2	7	-32,8	18,0	41,9	441	1	6	-34,5	26,0	41,9	451	2	8	
Q71LX8	Heat shock protein 84b	<i>Hsp90ab1</i>	-114,2	37,0	83,1	334	13	24	-141,5	37,0	83,1	660	15	28	-157,2	44,0	83,1	533	19	32	
P08113	Endoplasmic	<i>Hsp90b1</i>	-88,3	29,0	92,3	183	18	20	-152,0	39,0	92,3	618	31	34	-135,9	38,0	92,3	596	29	31	
P07901	Heat shock protein HSP 90-alpha	<i>Hsp90aa1</i>	-92,9	32,0	84,6	275	12	21	-100,8	27,0	84,6	435	12	22	-103,1	32,0	84,6	337	12	23	
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa, mitochondrial	<i>Trap1</i>	-39,9	14,0	80,0	92	7	8	-40,9	14,0	80,0	164	7	8	-41,5	15,0	80,0	121	8	9	
P99024	Tubulin beta-5 chain	<i>Tubb5</i>	-124,0	66,0	49,5	530	4	28	-120,4	71,0	49,5	844	4	28	-150,7	66,0	49,5	1072	4	28	
P68372	Tubulin beta-2C chain	<i>Tubb2c</i>	-122,3	62,0	49,7	384	2	27	-118,3	70,0	49,7	575	2	27	-143,0	66,0	49,7	702	1	27	
Q7TMM9	Tubulin beta-2A chain	<i>Tubb2a</i>	-116,8	58,0	49,8	388	3	25	-108,1	60,0	49,8	519	3	24	-131,7	60,0	49,8	685	4	25	
Q9ERD7	Tubulin beta-3 chain	<i>Tubb3</i>	-89,9	39,0	50,3	330	2	18	-77,8	34,0	50,3	472	1	16	-97,0	37,0	50,3	542	1	17	
P68373	Tubulin alpha-1C chain	<i>Tuba1c</i>	-101,4	51,0	49,8	376	6	18	-98,5	46,0	49,8	759	6	17	-110,6	51,0	49,8	1014	1	19	
P56480	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	<i>Atp5b</i>	-112,9	46,0	56,2	387	-	20	-122,7	51,0	56,2	723	-	23	-156,3	58,0	56,2	1137	-	26	
P27773	Protein disulfide-isomerase A3	<i>Pdia3</i>	-150,5	56,0	56,5	366	-	33	-187,7	61,0	56,5	982	-	38	-195,9	65,0	56,5	852	-	42	
P17182	Alpha-enolase	<i>Eno1</i>	-72,7	37,0	47,0	82	-	14	-136,1	54,0	47,0	630	-	25	-234,0	65,0	47,0	1204	37	44	
P62259	14-3-3 protein epsilon	<i>Ywhae</i>	-54,7	57,0	29,1	121	12	13	-58,1	54,0	29,1	151	13	14	-67,8	61,0	29,1	200	15	16	
P63101	14-3-3 protein zeta/delta	<i>Ywhaz</i>	-50,8	47,0	27,7	107	9	11	-48,1	53,0	27,7	124	9	10	-48,4	38,0	27,7	149	8	9	
P68254-1	Isoform 1 of 14-3-3 protein theta	<i>Ywhaq</i>	-30,9	27,0	27,7	52	7	8	-35,1	32,0	27,7	67	8	9	-55,5	46,0	27,7	90	11	12	
P61982	14-3-3 protein gamma	<i>Ywhag</i>	-20,0	20,0	28,2	50	3	5	-26,4	24,0	28,2	60	4	6	-31,5	28,0	28,2	64	4	6	
Q9CQV8-1	Isoform Long of 14-3-3 protein beta/alpha	<i>Ywhab</i>	-20,8	29,0	28,0	33	3	6	-36,4	42,0	28,0	44	6	8	-32,0	33,0	28,0	53	5	7	
P68510	14-3-3 protein eta	<i>Ywhah</i>	-19,2	14,0	28,1	25	3	4	-24,7	21,0	28,1	21	4	5	-32,8	35,0	28,1	37	8	9	
P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	<i>Ldhb</i>	-95,8	43,0	36,5	460	18	19	-57,3	37,0	36,5	260	12	14	-68,5	43,0	36,5	199	13	16	
P06151	L-lactate dehydrogenase A chain	<i>Ldha</i>	-7,3	9,0	36,4	40	1	2	-36,5	30,0	36,4	89	9	11	-47,6	31,0	36,4	111	10	13	
Q8K3V4	Protein-arginine deiminase type-6	<i>Pad16</i>	-112,5	44,0	76,6	579	-	23	-82,1	28,0	76,6	227	-	14	-80,7	34,0	76,6	189	-	17	
P63038-1	Isoform 1 of 60 kDa heat shock protein, mitochondrial	<i>Hspd1</i>	-104,2	46,0	60,8	178	-	20	-112,9	46,0	60,8	317	-	22	-120,5	48,0	60,8	348	-	24	
Q35737	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	<i>Hnrnph1</i>	-61,3	25,0	49,1	82	6	8	-83,5	28,0	49,1	221	4	11	-102,3	42,0	49,1	270	7	14	
Q9Z2X1-1	Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F	<i>Hnrmpf</i>	-58,9	31,0	45,6	79	8	10	-63,9	31,0	45,6	161	7	10	-64,0	34,0	45,6	205	8	10	
P09103	Protein disulfide-isomerase	<i>P4hb</i>	-82,8	38,0	57,0	123	-	20	-102,9	40,0	57,0	337	-	24	-121,6	42,0	57,0	362	18	28	
P61979-2	Isoform 2 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	<i>Hnrmpk</i>	-69,4	40,0	50,9	181	2	15	-71,2	45,0	50,9	258	3	16	-69,4	39,0	50,9	314	1	13	
Q3U6X2	Putative uncharacterized protein	<i>Hnrmpk</i>	-66,4	39,0	50,9	178	1	14	-69,0	43,0	50,9	252	1	15	-68,0	39,0	50,9	309	1	13	
Q01853	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	<i>Vcp</i>	-102,2	31,0	89,2	127	-	23	-163,3	44,0	89,2	348	-	33	-138,8	41,0	89,2	278	-	27	
Q3THH1	Putative uncharacterized protein	<i>Pdia6</i>	-56,8	30,0	48,5	84	-	10	-69,2	36,0	48,5	274	-	13	-81,8	45,0	48,5	360	-	15	
P47738	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial	<i>Aldh2</i>	-89,4	40,0	56,4	186	-	17	-76,9	34,0	56,4	220	-	15	-79,7	38,0	56,4	210	-	16	
P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	<i>Eif4a1</i>	-67,3	42,0	46,0	131	7	14	-76,2	38,0	46,0	230	10	16	-75,0	43,0	46,0	160	9	14	
P10630-1	Isoform 1 of Eukaryotic initiation factor 4A-II	<i>Eif4a2</i>	-42,3	21,0	46,3	93	1	8	-47,6	21,0	46,3	161	1	8	-51,2	25,0	46,3	114	3	9	
Q91VC3	Eukaryotic initiation factor 4A-III	<i>Eif4a3</i>	-25,1	16,0	46,7	34	5	6	-38,0	19,0	46,7	60	6	7	-35,1	18,0	46,7	67	6	7	
P20152	Vimentin	<i>Vim</i>	-76,1	44,0	53,6	95	-	18	-86,4	51,0	53,6	162	-	22	-105,6	57,0	53,6	321	-	27	

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq
P14206	40S ribosomal protein SA	<i>Rpsa</i>	-55,7	40,0	32,7	97	-	10	-71,4	48,0	32,7	190	-	13	-72,3	47,0	32,7	167	-	14
P08003	Protein disulfide-isomerase A4	<i>Pdia4</i>	-76,7	30,0	71,8	61	-	14	-108,8	39,0	71,8	190	-	25	-123,0	40,0	71,8	182	-	26
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	<i>Gapdh</i>	-34,0	31,0	35,7	30	5	7	-60,3	42,0	35,7	189	1	15	-74,0	50,0	35,7	190	3	18
P31324	cAMP-dependent protein kinase type II-beta regulatory subunit	<i>Prkar2b</i>	-33,4	29,0	46,0	27	-	9	-60,5	40,0	46,0	76	-	13	-117,0	59,0	46,0	309	-	21
Q02053	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1	<i>Uba1</i>	-66,8	18,0	117,6	71	-	15	-103,4	28,0	117,6	192	-	22	-99,8	26,0	117,6	138	-	20
Q60854	Serpin B6	<i>Serpinb6</i>	-66,8	18,0	117,6	71	-	15	-103,4	28,0	117,6	192	-	22	-99,8	26,0	117,6	138	-	20
P52480-1	Isoform M2 of Pyruvate kinase isozymes M1/M2	<i>Pkm2</i>	-26,1	15,0	57,7	11	-	6	-96,2	45,0	57,7	160	-	21	-125,3	52,0	57,7	214	25	26
P80314	T-complex protein 1 subunit beta	<i>Cct2</i>	-63,1	30,0	57,3	72	-	14	-65,5	34,0	57,3	146	-	15	-108,4	51,0	57,3	149	-	23
P14733	Lamin-B1	<i>Lmnb1</i>	-90,4	39,0	66,6	103	21	22	-68,5	38,0	66,6	77	16	17	-107,4	49,0	66,6	155	23	26
P21619-1	Isoform B2 of Lamin-B2	<i>Lmnb2</i>	-21,2	7,0	67,2	19	3	4	-14,1	4,0	67,2	9	1	2	-16,6	6,0	67,2	17	1	4
P14869	60S acidic ribosomal protein P0	<i>Rplp0</i>	-45,5	34,0	34,1	77	-	8	-36,5	38,0	34,1	137	-	8	-53,5	38,0	34,1	130	-	9
Q61171	Peroxiredoxin-2	<i>Prdx2</i>	-28,6	27,0	21,7	59	-	5	-28,2	27,0	21,7	104	-	5	-31,5	31,0	21,7	168	-	6
Q03265	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	<i>Atp5a1</i>	-18,7	13,0	59,6	7	-	6	-78,8	34,0	59,6	185	-	18	-68,7	31,0	59,6	135	-	15
P11983-1	Isoform 1 of T-complex protein 1 subunit alpha	<i>Tcp1</i>	-65,9	30,0	60,3	69	-	14	-82,0	44,0	60,3	128	-	19	-108,0	47,0	60,3	129	-	23
Q9Z204-1	Isoform C2 of Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	<i>Hnnpcc</i>	-39,9	29,0	34,3	71	-	10	-40,2	29,0	34,3	124	1	9	-42,7	29,0	34,3	122	1	9
P14152	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	<i>Mdh1</i>	-42,2	30,0	36,4	51	-	8	-42,0	33,0	36,4	107	-	9	-53,3	37,0	36,4	145	-	10
O08807	Peroxiredoxin-4	<i>Prdx4</i>	-24,3	26,0	30,9	29	6	7	-37,6	32,0	30,9	93	5	7	-64,8	67,0	30,9	84	13	14
P35700	Peroxiredoxin-1	<i>Prdx1</i>	-18,5	31,0	22,1	39	5	6	-31,9	51,0	22,1	80	9	11	-22,4	40,0	22,1	51	6	7
P60335	Poly(rC)-binding protein 1	<i>Pcbp1</i>	-32,7	27,0	37,4	46	4	6	-47,2	36,0	37,4	77	6	8	-41,5	34,0	37,4	66	5	7
Q61990-1	Isoform 1 of Poly(rC)-binding protein 2	<i>Pcbp2</i>	-35,1	26,0	38,1	51	5	7	-35,1	27,0	38,1	58	5	7	-33,2	23,0	38,1	46	5	7
P42932	T-complex protein 1 subunit theta	<i>Cct8</i>	-70,1	31,0	59,4	66	-	16	-75,4	44,0	59,4	124	-	19	-79,9	39,0	59,4	90	-	17
P21107-2	Isoform 2 of Tropomyosin alpha-3 chain	<i>Tpm3</i>	-54,0	45,0	28,9	52	11	15	-70,8	48,0	28,9	75	14	18	-72,3	49,0	28,9	67	15	19
E9Q455	Uncharacterized protein	<i>Tpm1</i>	-23,2	30,0	28,4	27	4	8	-36,5	41,0	28,6	41	3	11	-29,3	36,0	28,6	26	3	10
P58771-2	Isoform 2 of Tropomyosin alpha-1 chain	<i>Tpm1</i>	-12,4	20,0	32,6	15	2	6	-41,0	40,0	32,6	50	2	13	-29,2	36,0	32,6	21	3	11
Q99020	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	<i>Hnnpab</i>	-16,4	12,0	30,7	42	2	3	-26,7	16,0	30,7	65	4	5	-29,5	21,0	30,7	75	5	6
Q60668-1	Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0	<i>Hnnpd</i>	-17,2	10,0	38,2	20	2	4	-12,2	8,0	38,2	30	1	3	-13,1	8,0	38,2	43	1	3
Q9Z130	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like	<i>Hnnpdl</i>	-15,8	19,0	33,5	16	3	5	-17,3	16,0	33,5	22	3	5	-17,7	14,0	33,5	32	2	4
Q9R0P9	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1	<i>Uchl1</i>	-43,5	40,0	24,7	125	-	8	-31,8	39,0	24,7	71	-	7	-33,8	40,0	24,7	58	-	7
P48036	Annexin A5	<i>Anxa5</i>	-22,4	24,0	35,6	29	-	8	-46,0	39,0	35,6	89	-	13	-67,8	53,0	35,6	120	-	16
P34914-1	Isoform 1 of Epoxide hydrolase 2	<i>Ephx2</i>	-57,9	26,0	62,4	62	-	12	-79,9	30,0	62,4	65	-	14	-97,5	45,0	62,4	109	-	20
P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	<i>Pebp1</i>	-32,7	40,0	20,7	61	-	7	-31,0	45,0	20,7	70	-	6	-42,6	70,0	20,7	100	-	10
P09405	Nucleolin	<i>Ncl</i>	-38,8	15,0	76,6	45	-	9	-36,3	17,0	76,6	90	-	10	-53,3	18,0	76,6	93	-	12
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	<i>Sod1</i>	-22,1	32,0	15,9	59	-	5	-27,4	36,0	15,9	90	-	7	-37,7	55,0	15,9	73	-	9
Q61316	Heat shock 70 kDa protein 4	<i>Hspa4</i>	-79,1	26,0	94,0	64	16	17	-44,6	17,0	94,0	56	10	11	-52,6	21,0	94,0	45	12	13
Q61699-1	Isoform HSP105-alpha of Heat shock protein 105 kDa	<i>Hsph1</i>	-19,5	10,0	96,2	14	6	7	-31,8	13,0	96,2	35	8	9	-27,2	12,0	96,2	18	7	8
P58252	Elongation factor 2	<i>Eef2</i>	-48,7	18,0	95,1	35	-	14	-69,6	22,0	95,1	116	-	16	-68,0	25,0	95,1	69	-	17
P80316	T-complex protein 1 subunit epsilon	<i>Cct5</i>	-38,7	27,0	59,5	34	-	10	-45,4	19,0	59,5	85	-	9	-67,6	31,0	59,5	64	14	15
P57759	Endoplasmic reticulum resident protein 29	<i>Erp29</i>	-23,9	30,0	28,7	27	-	7	-29,4	30,0	28,7	81	-	7	-37,0	42,0	28,7	108	-	9
P57776-1	Isoform 1 of Elongation factor 1-delta	<i>Eef1d</i>	-31,1	29,0	31,2	53	1	6	-42,4	30,0	31,2	79	1	7	-40,3	30,0	31,2	69	1	7
P57776-2	Isoform 2 of Elongation factor 1-delta	<i>Eef1d</i>	-29,0	31,0	28,6	47	1	6	-38,7	31,0	28,6	72	2	8	-37,0	31,0	28,6	58	1	7

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
Q920E5	Farnesyl pyrophosphate synthase	<i>Fdps</i>	-8,9	14,0	40,5	5	-	4	-32,7	24,0	40,5	82	-	8	-49,4	33,0	40,5	127	-	10
Q9JKR6	Hypoxia up-regulated protein 1	<i>Hyou1</i>	-30,2	14,0	111,0	18	-	9	-64,3	22,0	111,0	84	-	15	-64,2	24,0	111,0	111	-	18
Q9Z1N5	Spliceosome RNA helicase Ddx39b	<i>Ddx39b</i>	-53,1	31,0	48,9	73	8	12	-38,9	25,0	48,9	61	5	9	-41,0	25,0	48,9	45	5	9
Q8VDW0-1	Isoform 1 of ATP-dependent RNA helicase DDX39A	<i>Ddx39a</i>	-26,8	15,0	48,9	31	2	6	-21,7	13,0	48,9	34	1	5	-35,5	23,0	48,9	29	4	8
Q8CDN6	Thioredoxin-like protein 1	<i>Txn1</i>	-36,7	31,0	32,1	37	-	6	-55,3	43,0	32,1	73	-	9	-60,7	52,0	32,1	88	-	11
P80318	T-complex protein 1 subunit gamma	<i>Cct3</i>	-60,0	38,0	60,5	52	-	16	-41,1	26,0	60,5	71	-	11	-60,4	40,0	60,5	73	-	17
Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	<i>Pgam1</i>	-20,8	27,0	28,7	18	-	6	-51,6	52,0	28,7	80	-	12	-57,3	51,0	28,7	96	9	13
P56395	Cytochrome b5	<i>Cyb5a</i>	-16,6	34,0	15,2	30	-	4	-32,3	48,0	15,2	73	-	8	-27,8	42,0	15,2	88	-	7
P17918	Proliferating cell nuclear antigen	<i>Pcna</i>	-31,2	38,0	28,7	43	-	7	-45,3	46,0	28,7	82	-	8	-45,2	53,0	28,7	64	-	8
Q9WTM5	RuvB-like 2	<i>Ruvb12</i>	-57,4	31,0	51,0	49	-	11	-60,0	35,0	51,0	73	-	13	-68,1	42,0	51,0	67	-	16
Q62318-1	Isoform 1 of Transcription intermediary factor 1-beta	<i>Trim28</i>	-42,6	15,0	88,7	43	-	8	-56,0	20,0	88,7	87	-	11	-52,9	17,0	88,7	59	-	9
Q3UAV7	Isocitrate dehydrogenase [NADP]	<i>Idh1</i>	-32,6	20,0	46,6	24	-	7	-64,4	39,0	46,6	83	-	14	-57,8	35,0	46,6	80	-	12
Q9D8N0	Elongation factor 1-gamma	<i>Eef1g</i>	-39,8	21,0	49,9	37	-	10	-38,1	18,0	49,9	96	-	9	-38,7	21,0	49,9	53	-	8
Q9D1A2	Cytosolic non-specific dipeptidase	<i>Cndp2</i>	-31,6	24,0	52,6	21	-	9	-57,1	36,0	52,6	88	-	14	-63,0	39,0	52,6	77	-	14
P50247	Adenosylhomocysteinase	<i>Ahcy</i>	-43,1	26,0	47,6	55	-	10	-43,8	22,0	47,6	68	-	9	-53,8	28,0	47,6	61	10	11
POCG49	Polyubiquitin-B	<i>Ubb</i>	-11,0	11,0	34,3	50	-	3	-23,8	18,0	34,3	77	3	6	-14,3	15,0	34,3	53	-	4
O08553	Dihydropyrimidinase-related protein 2	<i>Dpysl2</i>	-32,9	22,0	62,1	24	8	9	-38,2	28,0	62,1	27	10	11	-72,8	41,0	62,1	71	16	18
E9PWEE8	Uncharacterized protein	<i>Dpysl3</i>	-42,0	24,0	73,7	29	10	11	-19,4	12,0	73,7	11	5	6	-55,3	30,0	73,7	38	11	13
Q8BHN3-1	Isoform 1 of Neutral alpha-glucosidase AB	<i>Ganab</i>	-21,0	7,0	106,7	14	-	5	-45,5	15,0	106,7	65	-	11	-98,2	30,0	106,7	93	-	24
Q60864	Stress-induced-phosphoprotein 1	<i>Stip1</i>	-42,4	30,0	62,4	40	-	12	-55,7	32,0	62,4	68	-	16	-61,0	28,0	62,4	63	-	14
P23198	Chromobox protein homolog 3	<i>Cbx3</i>	-29,4	30,0	20,8	31	6	7	-32,0	29,0	20,8	43	4	6	-34,7	42,0	20,8	58	5	7
P83917	Chromobox protein homolog 1	<i>Cbx1</i>	-13,5	23,0	21,3	24	2	3	-18,3	24,0	21,3	20	3	4	-25,5	30,0	21,3	43	4	5
Q61686	Chromobox protein homolog 5	<i>Cbx5</i>	-5,9	14,0	22,1	3	-	2	-6,2	11,0	22,1	3	1	2	-4,8	11,0	22,1	4	1	2
Q91W90	Thioredoxin domain-containing protein 5	<i>Txnac5</i>	-35,7	22,0	46,3	24	-	7	-46,9	34,0	46,3	62	-	11	-60,4	36,0	46,3	76	-	11
P67778	Prohibitin	<i>Phb</i>	-40,6	38,0	29,7	36	-	9	-43,9	38,0	29,7	57	-	8	-45,2	38,0	29,7	69	-	8
Q8BTM8-1	Isoform 1 of Filamin-A	<i>Flna</i>	-31,5	4,0	280,8	14	-	7	-100,0	14,0	280,8	115	-	27	-43,4	7,0	280,8	29	-	13
P08249	Malate dehydrogenase, mitochondrial	<i>Mdh2</i>	-17,2	12,0	35,5	6	-	3	-69,1	53,0	35,5	86	-	13	-60,6	53,0	35,5	66	-	13
A2AGN7	Proteasome (Prosome, macropain) 26S subunit ATPase 3	<i>Psmc3</i>	-48,2	44,0	44,6	26	-	13	-44,8	44,0	44,6	37	-	12	-65,8	49,0	44,6	92	2	14
Q91WT7	3-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase type 1	<i>Akr1c14</i>	-20,5	15,0	37,1	6	-	4	-23,4	15,0	37,1	36	4	5	-35,9	29,0	37,1	43	8	9
Q9CZ13	Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial	<i>Uqcrc1</i>	-42,1	33,0	52,6	46	-	10	-34,8	27,0	52,6	45	-	8	-46,3	33,0	52,6	63	-	11
P10126	Elongation factor 1-alpha 1	<i>Eef1a1</i>	-14,8	12,0	50,0	17	-	4	-41,3	28,0	50,0	86	-	10	-21,1	14,0	50,0	51	-	5
A2A875	Retinoblastoma binding protein 4	<i>Rbbp4</i>	-28,2	15,0	47,5	40	4	5	-26,9	22,0	47,5	38	5	6	-30,8	22,0	47,5	33	5	6
Q60973	Histone-binding protein RBBP7	<i>Rbbp7</i>	-16,8	11,0	47,7	39	3	4	-19,8	11,0	47,7	33	3	4	-22,3	18,0	47,7	27	4	5
O08709	Peroxiredoxin-6	<i>Prdx6</i>	-45,4	48,0	24,8	34	-	10	-57,3	61,0	24,8	64	-	12	-58,0	57,0	24,8	48	-	10
P24815	3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/Delta 5--4-isomerase type 1	<i>Hsd3b1</i>	-3,9	4,0	41,9	1	-	1	-40,6	24,0	41,9	60	-	9	-55,2	34,0	41,9	85	-	13
Q9CWU5-2	Isoform 2 of Protein Filia	<i>Khdc3</i>	-58,5	39,0	37,7	78	2	11	-49,0	31,0	37,7	42	-	10	-33,6	27,0	37,7	20	-	8
P80317	T-complex protein 1 subunit zeta	<i>Cct6a</i>	-31,5	16,0	57,9	26	-	7	-34,4	23,0	57,9	68	-	9	-36,9	28,0	57,9	51	-	10
P10853	Histone H2B type 1-F/J/L	<i>Hist1h2bf</i>	-9,3	20,0	13,9	16	-	2	-13,5	28,0	13,9	58	2	3	-15,9	28,0	13,9	70	-	4
Q3TS85	Putative uncharacterized protein	<i>Rdx</i>	-50,5	20,0	68,4	55	6	10	-19,7	12,0	68,4	24	2	6	-30,4	13,0	68,4	27	4	7
P26040	Ezrin	<i>Ezr</i>	-33,0	15,0	69,3	26	4	8	-25,3	15,0	69,3	25	4	8	-27,0	10,0	69,3	22	3	6

			IS						RMS						FA								
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log[E value]	% Protéine		Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep		log[E value]	% Protéine		Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep		log[E value]	% Protéine		Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep	
				Couverte				Uniq	Pep Uniq		Couverte				Uniq	Pep Uniq		Couverte				Uniq	Pep Uniq
E9PZF0	Nucleoside diphosphate kinase	<i>Nme2</i>	-20,8	26,0	30,1	37	-	7	-21,6	22,0	30,1	61	-	6	-21,6	26,0	30,1	40	-	7			
Q99PT1	Rho GDP-dissociation inhibitor 1	<i>Arhgdia</i>	-22,1	30,0	23,3	29	-	5	-27,7	30,0	23,3	49	-	6	-29,8	42,0	23,3	58	-	7			
Q91VD9	NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit, mitochondrial	<i>Ndufs1</i>	-60,5	25,0	79,6	39	-	14	-35,6	16,0	79,6	20	-	9	-75,1	28,0	79,6	77	-	17			
P60122	RuvB-like 1	<i>Ruvb1</i>	-43,7	30,0	50,1	37	-	11	-44,2	30,0	50,1	66	-	10	-38,5	23,0	50,1	33	-	8			
Q93092	Transaldolase	<i>Taldo1</i>	-13,5	9,0	37,3	15	-	3	-25,9	22,0	37,3	41	-	7	-44,2	35,0	37,3	79	-	12			
Q8BG32	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11	<i>Psm11</i>	-33,9	26,0	47,3	30	-	9	-43,7	35,0	47,3	51	-	12	-50,9	37,0	47,3	54	-	12			
P20108	Thioredoxin-dependent peroxide reductase, mitochondrial	<i>Prdx3</i>	-29,1	27,0	28,0	28	-	7	-30,0	22,0	28,0	52	-	6	-38,5	29,0	28,0	55	-	7			
Q9Z218-1	Isoform 1 of Succinyl-CoA ligase [GDP-forming] subunit beta, mitochondrial	<i>Suclg2</i>	-41,3	23,0	46,7	28	-	7	-47,4	31,0	46,7	56	-	11	-52,0	33,0	46,7	50	-	10			
Q8VEK3	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U	<i>Hnrnpu</i>	-28,8	9,0	87,8	32	-	6	-41,0	13,0	87,8	61	-	8	-34,1	15,0	87,8	39	-	7			
P17751	Triosephosphate isomerase	<i>Tpi1</i>	-10,0	15,0	26,6	8	-	3	-36,3	31,0	26,6	40	-	7	-44,5	48,0	26,6	80	-	9			
Q91VI7	Ribonuclease inhibitor	<i>Rnh1</i>	-30,8	21,0	49,7	25	-	8	-41,6	26,0	49,7	33	-	9	-78,9	47,0	49,7	69	-	17			
P63028	Translationally-controlled tumor protein	<i>Tpt1</i>	-19,7	30,0	19,4	20	-	4	-25,8	31,0	19,4	56	-	6	-22,3	31,0	19,4	51	-	5			
Q9Z2U1	Proteasome subunit alpha type-5	<i>Pma5</i>	-21,9	34,0	26,3	26	-	6	-35,6	52,0	26,3	46	-	9	-34,9	43,0	26,3	54	-	8			
Q61937	Nucleophosmin	<i>Npm1</i>	-20,2	19,0	32,5	17	-	3	-41,7	32,0	32,5	75	-	6	-33,8	23,0	32,5	34	-	5			
Q61753	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	<i>Phgdh</i>	-29,7	16,0	56,5	37	-	8	-42,0	23,0	56,5	62	-	10	-36,7	24,0	56,5	26	-	9			
P40142	Transketolase	<i>Tkt</i>	-25,6	15,0	67,5	16	-	6	-56,4	25,0	67,5	75	-	12	-41,9	21,0	67,5	32	-	10			
Q8BL97-1	Isoform 1 of Serine/arginine-rich splicing factor 7	<i>Srsf7</i>	-15,0	12,0	30,7	21	2	3	-22,3	18,0	30,7	25	4	5	-24,9	18,0	30,7	29	4	5			
P84104-1	Isoform Long of Serine/arginine-rich splicing factor 3	<i>Srsf3</i>	-13,8	24,0	19,2	19	3	4	-16,8	28,0	19,2	34	3	4	-17,2	28,0	19,2	19	4	5			
Q61553	Fascin	<i>Fscn1</i>	-26,9	17,0	54,4	20	-	7	-47,6	25,0	54,4	53	-	11	-43,6	25,0	54,4	49	-	11			
P19324	Serpin H1	<i>Serpinh1</i>	-3,0	4,0	46,5	1	-	1	-51,8	29,0	46,5	80	-	11	-30,7	18,0	46,5	39	-	8			
Q8CAQ8-1	Isoform 1 of Mitochondrial inner membrane protein	<i>Immt</i>	-42,2	17,0	83,7	21	-	11	-37,1	17,0	83,7	28	-	10	-78,0	32,0	83,7	70	-	19			
Q61598-1	Isoform 1 of Rab GDP dissociation inhibitor beta	<i>Gdi2</i>	-18,8	17,0	50,4	16	-	6	-27,6	28,0	50,4	32	-	9	-60,6	42,0	50,4	60	11	15			
Q64727	Vinculin	<i>Vcl</i>	-31,1	10,0	116,5	14	-	9	-25,6	12,0	116,5	23	-	9	-96,1	29,0	116,5	81	-	25			
Q9QUM9	Proteasome subunit alpha type-6	<i>Pma6</i>	-34,4	33,0	27,3	37	-	7	-27,5	29,0	27,3	40	-	6	-22,4	26,0	27,3	40	-	6			
Q8BFR5-1	Isoform 1 of Elongation factor Tu, mitochondrial	<i>Tufm</i>	-45,2	27,0	49,4	32	-	11	-45,9	31,0	49,4	43	-	11	-40,9	26,0	49,4	40	-	10			
P10761	Zona pellucida sperm-binding protein 3	<i>Zp3</i>	-44,2	21,0	46,2	79	-	11	-26,4	14,0	46,2	27	-	6	-15,7	9,0	46,2	7	-	3			
P62137	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-alpha catalytic subunit	<i>Ppp1ca</i>	-19,2	24,0	37,4	15	5	7	-27,3	25,0	37,4	25	4	7	-33,2	36,0	37,4	18	3	9			
P62141	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-beta catalytic subunit	<i>Ppp1cb</i>	-14,6	12,0	37,1	12	1	3	-24,9	19,0	37,1	24	2	6	-28,4	27,0	37,1	15	2	8			
P63087-1	Isoform Gamma-1 of Serine/threonine-protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit	<i>Ppp1cc</i>	-15,5	15,0	36,9	10	2	4	-23,0	18,0	36,9	20	2	6	-33,2	35,0	36,9	17	2	9			
P63328-1	Isoform 1 of Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit alpha isoform	<i>Ppp3ca</i>	-6,7	4,0	58,5	3	-	2	-6,8	5,0	58,5	5	1	2	-5,8	2,0	58,5	1	-	1			
Q9R1P4	Proteasome subunit alpha type-1	<i>Pma1</i>	-12,5	16,0	29,4	23	-	3	-20,8	20,0	29,4	46	-	6	-33,3	34,0	29,4	41	-	8			
Q8VDD5	Myosin-9	<i>Myh9</i>	-18,5	1,0	226,0	10	-	3	-76,7	15,0	226,0	60	18	24	-15,1	1,0	226,0	11	-	3			
Q61879	Myosin-10	<i>Myh10</i>	-8,2	1,0	228,7	3	-	3	-41,7	7,0	228,7	20	8	12	-10,3	1,0	228,7	9	-	3			
P20239	Zona pellucida sperm-binding protein 2	<i>Zp2</i>	-40,6	19,0	80,1	69	-	12	-15,2	7,0	80,1	21	-	4	-15,0	10,0	80,1	19	-	5			
P70168	Importin subunit beta-1	<i>Kpnb1</i>	-28,9	12,0	97,0	24	-	8	-33,1	12,0	97,0	57	-	8	-26,3	7,0	97,0	27	-	5			
Q99L47	Hsc70-interacting protein	<i>St13</i>	-32,1	16,0	41,5	31	-	6	-30,9	16,0	41,5	35	-	6	-28,3	16,0	41,5	40	-	6			
Q99KV1	DnaJ homolog subfamily B member 11	<i>Dnajb11</i>	-15,6	13,0	40,4	8	-	3	-24,1	21,0	40,4	37	-	6	-43,6	33,0	40,4	61	-	10			
P15626	Glutathione S-transferase Mu 2	<i>Gstm2</i>	-28,0	41,0	25,6	25	6	8	-27,9	39,0	25,6	20	5	8	-31,6	44,0	25,6	22	5	9			
P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	<i>Gstm1</i>	-8,8	17,0	25,9	10	1	3	-25,2	39,0	25,9	19	5	8	-15,7	26,0	25,9	14	2	5			
Q9DCX2	ATP synthase subunit d, mitochondrial	<i>Atp5h</i>	-21,5	29,0	18,7	18	-	5	-28,2	45,0	18,7	38	-	6	-39,1	62,0	18,7	48	-	10			

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moleculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moleculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moleculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
Q6PDM2-1	Isoform 1 of Serine/arginine-rich splicing factor 1	<i>Srsf1</i>	-21,5	20,0	27,6	27	-	6	-23,9	30,0	27,6	33	-	7	-24,2	30,0	27,6	43	-	7
Q9JHU9	Inositol-3-phosphate synthase 1	<i>Isyna1</i>	-34,2	20,0	60,8	40	-	8	-31,5	19,0	60,8	37	-	7	-33,0	17,0	60,8	26	-	7
Q88VQ9	Putative uncharacterized protein	<i>Psmc2</i>	-23,5	12,0	52,7	26	-	5	-40,1	30,0	52,7	53	-	11	-27,3	21,0	52,7	22	-	8
P30416	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP4	<i>Fkbp4</i>	-28,7	23,0	51,4	20	-	8	-29,5	29,0	51,4	29	-	10	-61,7	42,0	51,4	52	-	14
Q99KE1	NAD-dependent malic enzyme, mitochondrial	<i>Me2</i>	-26,9	14,0	65,7	15	-	7	-19,8	9,0	65,7	17	-	5	-73,6	34,0	65,7	68	-	15
Q05816	Fatty acid-binding protein, epidermal	<i>Fabp5</i>	-7,6	15,0	15,1	4	-	2	-5,2	15,0	15,1	16	-	2	-47,6	72,0	15,1	79	-	10
P50580	Proliferation-associated protein 2G4	<i>Pa2g4</i>	-32,3	26,0	43,6	21	-	8	-51,2	28,0	43,6	44	-	10	-44,5	28,0	43,6	33	-	9
Q9R1P1	Proteasome subunit beta type-3	<i>Psmb3</i>	-24,8	28,0	22,9	23	-	4	-25,4	21,0	22,9	38	-	4	-32,1	30,0	22,9	37	-	5
Q9DAW9	Calponin-3	<i>Cnn3</i>	-30,9	29,0	36,3	43	-	7	-28,5	29,0	36,3	38	-	7	-21,8	22,0	36,3	16	-	5
P62821	Ras-related protein Rab-1A	<i>Rab1A</i>	-2,7	5,0	22,6	1	-	1	-10,5	18,0	22,6	14	2	3	-21,6	32,0	22,6	27	3	5
Q9D1G1	Ras-related protein Rab-1B	<i>Rab1b</i>	-3,2	4,0	22,1	1	-	1	-5,7	10,0	22,1	7	1	2	-16,3	31,0	22,1	22	3	5
Q60715-1	Isoform 1 of Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1	<i>P4ha1</i>	-4,6	2,0	60,8	1	-	1	-31,0	13,0	60,8	34	-	7	-58,1	23,0	60,8	60	1	11
Q02819	Nucleobindin-1	<i>Nucb1</i>	-13,5	8,0	53,3	8	-	3	-31,3	27,0	53,3	27	-	10	-53,3	36,0	53,3	59	-	13
Q3THE2	Myosin regulatory light chain 12B	<i>My112b</i>	-16,8	34,0	19,7	27	-	5	-24,2	39,0	19,7	33	-	6	-26,9	39,0	19,7	33	-	6
Q9CZ44-1	Isoform 1 of NSFL1 cofactor p47	<i>Nsf11c</i>	-44,3	36,0	40,6	26	-	9	-45,8	36,0	40,6	35	-	9	-44,6	31,0	40,6	31	-	8
P47754	F-actin-capping protein subunit alpha-2	<i>Capza2</i>	-21,1	15,0	32,9	16	-	4	-18,4	13,0	32,9	23	3	4	-25,0	25,0	32,9	26	5	6
P47753	F-actin-capping protein subunit alpha-1	<i>Capza1</i>	-11,2	17,0	32,8	8	-	3	-12,1	20,0	32,8	11	3	4	-12,0	13,0	32,8	12	2	3
Q921F2	TAR DNA-binding protein 43	<i>Tardbp</i>	-19,5	9,0	44,4	20	-	3	-24,3	14,0	44,4	28	-	5	-33,8	20,0	44,4	42	-	8
Q9WWB3	Transducin-like enhancer protein 6	<i>Tie6</i>	-60,1	30,0	65,0	77	-	13	-14,0	8,0	65,0	11	-	4	-5,5	4,0	65,0	2	-	2
Q9Z1Q5	Chloride intracellular channel protein 1	<i>Clic1</i>	-18,2	17,0	26,9	20	-	3	-25,0	22,0	26,9	31	-	4	-28,8	35,0	26,9	38	-	6
Q88H04	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP], mitochondrial	<i>Pck2</i>	-39,9	21,0	70,4	27	-	10	-31,2	14,0	70,4	29	-	7	-39,9	18,0	70,4	33	-	8
Q91XH5	Sepiapterin reductase	<i>Spr</i>	-18,3	22,0	27,8	8	-	4	-42,8	37,0	27,8	40	-	7	-70,3	56,0	27,8	40	-	11
P63158	High mobility group protein B1	<i>Hmgb1</i>	-30,7	27,0	24,8	22	-	6	-12,2	13,0	24,8	15	-	2	-47,0	39,0	24,8	51	-	10
Q9D6R2-1	Isoform 1 of Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha, mitochondrial	<i>Idh3a</i>	-15,0	15,0	39,5	18	-	5	-21,1	22,0	39,5	24	-	5	-39,8	34,0	39,5	44	2	10
Q62167	ATP-dependent RNA helicase DDX3X	<i>Ddx3x</i>	-11,4	5,0	73,0	8	2	3	-29,1	13,0	73,0	30	6	8	-28,2	12,0	73,0	19	5	7
Q501J6-1	Isoform 1 of Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17	<i>Ddx17</i>	-6,8	3,0	72,3	4	1	2	-25,8	13,0	72,3	21	3	8	-25,0	12,0	72,3	14	5	7
Q9CQ60	6-phosphogluconolactonase	<i>Pgls</i>	-32,5	34,0	27,2	15	-	6	-37,5	30,0	27,2	39	-	7	-47,8	49,0	27,2	32	-	9
O70435	Proteasome subunit alpha type-3	<i>Psm3</i>	-18,7	19,0	28,3	18	-	4	-25,4	29,0	28,3	26	-	6	-30,8	29,0	28,3	41	-	6
P57780	Alpha-actinin-4	<i>Actn4</i>	-39,0	12,0	104,8	21	-	8	-48,6	17,0	104,8	48	7	12	-8,0	3,0	104,8	5	1	2
P97371	Proteasome activator complex subunit 1	<i>Psme1</i>	-29,1	35,0	28,6	20	-	8	-31,2	30,0	28,6	27	-	6	-49,5	59,0	28,6	38	-	12
P46638	Ras-related protein Rab-11B	<i>Rab11b</i>	-7,0	11,0	24,4	7	-	2	-20,3	26,0	24,4	29	-	5	-25,6	29,0	24,4	48	-	6
Q99KP3	Lambda-crystallin homolog	<i>Cry11</i>	-33,5	32,0	35,1	37	-	7	-22,2	23,0	35,1	30	-	4	-24,8	25,0	35,1	16	-	5
P54227	Stathmin	<i>Stmn1</i>	-17,3	24,0	17,2	27	-	4	-16,8	24,0	17,2	35	-	4	-11,6	18,0	17,2	20	-	3
Q68FD5	Clathrin heavy chain 1	<i>Cltc</i>	-16,3	2,0	191,3	9	-	4	-52,1	11,0	191,3	58	-	13	-26,1	6,0	191,3	14	-	8
Q76M23	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform	<i>Ppp2r1a</i>	-29,1	15,0	65,2	11	-	6	-27,9	19,0	65,2	25	-	8	-44,4	24,0	65,2	45	-	10
P62827	GTP-binding nuclear protein Ran	<i>Ran</i>	-14,0	20,0	24,3	15	-	4	-30,9	33,0	24,3	36	-	7	-14,5	20,0	24,3	29	-	4
O08749	Dihydropyridyl dehydrogenase, mitochondrial	<i>Did</i>	-24,4	16,0	54,1	17	-	6	-25,2	16,0	54,1	28	-	6	-32,0	21,0	54,1	35	-	8
P29758	Ornithine aminotransferase, mitochondrial	<i>Oat</i>	-14,2	8,0	48,2	4	-	4	-29,3	15,0	48,2	18	-	6	-75,9	41,0	48,2	58	-	14
Q9D819	Inorganic pyrophosphatase	<i>Ppa1</i>	-25,7	18,0	32,6	9	-	5	-37,5	33,0	32,6	45	-	9	-36,5	36,0	32,6	26	-	8
Q8BMF4	Dihydropyridyllysine-residue acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex, mitochondrial	<i>Dlat</i>	-28,7	13,0	67,8	20	-	6	-29,4	10,0	67,8	19	-	5	-34,8	15,0	67,8	41	-	7

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
Q6ZWX6	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 1	<i>Eif2s1</i>	-17,4	19,0	36,0	19	-	5	-24,1	24,0	36,0	28	-	6	-26,9	28,0	36,0	32	-	7
Q9DOF9	Phosphoglucomutase-1	<i>Pgm1</i>	-24,2	11,0	61,4	12	-	5	-12,2	5,0	61,4	7	-	2	-64,7	35,0	61,4	60	-	14
Q78ZA7	Nucleosome assembly protein 1-like 4	<i>Nap14</i>	-14,7	14,0	42,6	4	-	3	-27,6	21,0	42,6	28	-	7	-34,6	26,0	42,6	21	7	8
Q9WVJ2	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 13	<i>Psm13</i>	-18,1	18,0	42,7	15	-	5	-34,0	28,0	42,7	34	-	9	-37,2	28,0	42,7	30	-	9
O70251	Elongation factor 1-beta	<i>Eef1b</i>	-15,1	12,0	24,6	18	-	2	-16,6	20,0	24,6	31	-	3	-17,3	12,0	24,6	30	-	2
P61205	ADP-ribosylation factor 3	<i>Arf3</i>	-13,8	19,0	20,5	18	-	3	-9,6	14,0	20,5	10	1	2	-22,2	33,0	20,5	39	2	4
Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial	<i>Sdha</i>	-25,1	15,0	72,4	12	-	7	-28,7	13,0	72,4	19	-	8	-57,1	27,0	72,4	46	-	13
Q80UL3	Galactokinase 1	<i>Galk1</i>	-11,8	9,0	42,2	9	-	3	-20,1	19,0	42,2	20	-	6	-34,8	24,0	42,2	48	-	9
P05064	Fructose-bisphosphate aldolase A	<i>Aldoa</i>	-13,2	12,0	39,2	8	-	3	-43,1	29,0	39,2	41	-	10	-29,4	30,0	39,2	28	-	9
P47757-1	Isoform 1 of F-actin-capping protein subunit beta	<i>Capzb</i>	-35,8	35,0	31,2	22	-	8	-23,5	21,0	31,2	20	-	5	-33,1	35,0	31,2	34	-	7
Q61166	Microtubule-associated protein RP/EB family member 1	<i>Mapre1</i>	-30,4	44,0	29,9	17	-	8	-33,7	44,0	29,9	28	-	8	-31,0	40,0	29,9	30	-	6
Q00612	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase X	<i>G6pdx</i>	-27,7	17,0	59,1	22	-	7	-24,4	14,0	59,1	19	-	5	-41,4	24,0	59,1	33	-	10
Q8CGK3	Lon protease homolog, mitochondrial	<i>Lonp1</i>	-25,1	11,0	105,7	11	-	8	-31,6	13,0	105,7	16	-	9	-71,0	31,0	105,7	47	-	23
P61089	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 N	<i>Ube2n</i>	-9,9	16,0	17,1	15	-	2	-13,2	29,0	17,1	29	-	3	-17,9	42,0	17,1	29	-	5
P54869	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, mitochondrial	<i>Hmgcs2</i>	-28,7	15,0	56,7	37	-	7	-17,6	14,0	56,7	17	5	6	-15,5	15,0	56,7	13	5	6
P19096	Fatty acid synthase	<i>Fasn</i>	-17,5	2,0	272,0	4	-	4	-62,9	9,0	272,0	48	-	18	-41,0	5,0	272,0	20	-	11
Q99L13	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase, mitochondrial	<i>Hibadh</i>	-34,3	22,0	35,3	19	-	5	-35,2	27,0	35,3	24	-	6	-46,1	32,0	35,3	28	-	7
Q99LX0	Protein DJ-1	<i>Park7</i>	-13,1	35,0	19,9	12	-	4	-17,0	43,0	19,9	19	-	5	-22,0	43,0	19,9	40	-	5
Q9DCT2	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial	<i>Ndufs3</i>	-23,9	18,0	30,0	23	-	4	-18,9	14,0	30,0	24	-	3	-26,1	28,0	30,0	24	-	6
Q3TG52	Putative uncharacterized protein	<i>Aldh9a1</i>	-39,3	21,0	55,7	19	-	9	-26,4	23,0	55,7	20	-	9	-37,6	23,0	55,7	31	-	9
P19536	Cytochrome c oxidase subunit 5B, mitochondrial	<i>Cox5b</i>	-14,2	37,0	13,7	13	-	4	-16,6	37,0	13,7	25	-	4	-21,9	37,0	13,7	31	-	5
P99026	Proteasome subunit beta type-4	<i>Psmb4</i>	-17,1	17,0	29,0	11	-	3	-20,6	25,0	29,0	27	-	4	-22,8	25,0	29,0	30	-	4
Q60932-1	Isoform PI-VDAC1 of Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	<i>Vdac1</i>	-8,1	11,0	32,2	3	2	3	-21,4	29,0	32,2	28	5	6	-23,7	22,0	32,2	17	5	6
Q60931	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	<i>Vdac3</i>	-9,5	19,0	30,7	4	3	4	-15,5	23,0	30,7	25	5	6	-7,9	14,0	30,7	6	2	3
Q9JIF0-1	Isoform 1 of Protein arginine N-methyltransferase 1	<i>Prmt1</i>	-36,6	23,0	42,3	22	-	8	-21,1	17,0	42,3	9	-	5	-40,3	31,0	42,3	36	-	10
Q3U8X1	Putative uncharacterized protein	<i>Eif3f</i>	-28,9	21,0	37,9	19	-	6	-27,4	25,0	37,9	26	-	7	-31,0	25,0	37,9	22	-	7
Q60930	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	<i>Vdac2</i>	-12,3	14,0	31,6	9	-	3	-18,1	18,0	31,6	26	-	5	-36,4	28,0	31,6	31	-	7
Q8C1A5	Thimet oligopeptidase	<i>Thop1</i>	-18,6	10,0	77,9	13	-	5	-27,9	19,0	77,9	21	-	10	-46,5	23,0	77,9	32	-	12
Q91253	Glyoxylate reductase/hydroxypyruvate reductase	<i>Ghrpr</i>	-19,0	21,0	35,2	12	-	6	-23,1	21,0	35,2	27	-	6	-31,3	29,0	35,2	27	-	8
P54775	26S protease regulatory subunit 6B	<i>Psmc4</i>	-9,4	13,0	47,2	10	-	4	-25,5	22,0	47,2	25	-	7	-37,4	30,0	47,2	31	-	9
Q9CWJ9	Bifunctional purine biosynthesis protein PURH	<i>Atic</i>	-37,2	23,0	64,1	22	-	9	-35,9	17,0	64,1	31	-	7	-27,1	15,0	64,1	12	-	6
P63242	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	<i>Eif5a</i>	-23,1	46,0	16,7	13	-	6	-27,3	44,0	16,7	19	-	6	-33,2	44,0	16,7	33	-	8
Q3UCL0	Annexin A4, isoform CRA_b	<i>Anxa4</i>	-49,2	36,0	35,8	26	-	10	-28,9	29,0	35,8	12	-	8	-33,7	26,0	35,8	26	-	6
Q3TNH0	Putative uncharacterized protein	<i>Tmpo</i>	-15,0	14,0	45,9	13	-	4	-24,7	20,0	45,9	31	-	5	-25,4	20,0	45,9	20	-	5
Q6ZWZ6	40S ribosomal protein S12	<i>Rps12</i>	-23,5	52,0	14,4	17	-	6	-33,7	51,0	14,4	26	-	6	-27,6	58,0	14,4	20	-	6
Q8VDM4	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2	<i>Psm2</i>	-16,2	7,0	100,0	10	-	4	-31,2	10,0	100,0	28	-	8	-25,2	11,0	100,0	25	-	7
P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2	<i>Gnb2</i>	-9,1	10,0	37,2	4	2	3	-9,0	10,0	37,2	10	2	3	-26,8	20,0	37,2	28	4	5
P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-1	<i>Gnb1</i>	-6,2	6,0	37,3	2	1	2	-4,9	7,0	37,3	6	1	2	-30,6	27,0	37,3	19	6	7
P24527	Leukotriene A-4 hydrolase	<i>Lta4h</i>	-27,3	12,0	68,9	15	-	6	-21,5	10,0	68,9	11	-	5	-50,4	25,0	68,9	34	-	13
Q07417	Short-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Acads</i>	-20,2	21,0	44,8	19	-	6	-18,6	16,0	44,8	17	-	5	-21,7	19,0	44,8	24	-	6

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
Q6PB66	Leucine-rich PPR motif-containing protein, mitochondrial	<i>Lrpprc</i>	-49,2	13,0	156,4	25	-	15	-27,7	6,0	156,4	18	-	7	-38,1	9,0	156,4	17	-	10
O88569-1	Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	<i>Hnrnpa2b1</i>	-5,0	4,0	37,3	6	-	1	-30,1	28,0	37,3	41	-	6	-22,3	18,0	37,3	13	-	4
Q9DB05	Alpha-soluble NSF attachment protein	<i>Napa</i>	-18,6	27,0	33,1	14	-	6	-26,4	29,0	33,1	16	-	6	-46,1	53,0	33,1	29	-	11
Q8BF29	Erlin-2	<i>Erlin2</i>	-24,4	17,0	37,8	16	-	5	-23,0	17,0	37,8	18	-	5	-23,0	19,0	37,8	23	3	5
Q3TH56	S-adenosylmethionine synthase isoform type-2	<i>Mat2a</i>	-15,7	13,0	43,6	15	-	4	-19,6	16,0	43,6	27	-	5	-17,3	16,0	43,6	16	-	5
P24472	Glutathione S-transferase A4	<i>Gsta4</i>	-13,9	24,0	25,5	23	-	4	-12,5	25,0	25,5	11	-	4	-17,7	29,0	25,5	24	-	5
Q9D1Q6	Endoplasmic reticulum resident protein 44	<i>Erp44</i>	-17,8	17,0	46,7	8	-	5	-18,9	17,0	46,7	15	-	5	-34,6	30,0	46,7	35	-	8
P35564	Calnexin	<i>Canx</i>	-8,6	4,0	67,1	4	-	2	-20,9	13,0	67,1	29	-	6	-25,2	11,0	100,0	25	-	7
P10518	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	<i>Alad</i>	-38,5	30,0	35,9	36	-	8	-15,7	19,0	35,9	12	-	4	-10,4	9,0	35,9	9	-	2
Q7TQI3	Ubiquitin thioesterase OTUB1	<i>Otub1</i>	-18,2	20,0	31,2	22	-	4	-17,9	20,0	31,2	16	-	4	-22,2	23,0	31,2	19	-	5
Q6IRU2	Tropomyosin alpha-4 chain	<i>Tpm4</i>	-21,1	19,0	28,4	10	-	5	-33,6	28,0	28,4	17	-	8	-50,6	42,0	28,4	30	-	12
Q62186	Translocon-associated protein subunit delta	<i>Ssr4</i>	-9,6	13,0	18,8	9	-	2	-12,6	24,0	18,8	27	-	3	-12,5	24,0	18,8	21	-	3
P24369	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	<i>Ppib</i>	-3,6	5,0	23,6	1	-	1	-25,0	35,0	23,6	51	-	7	-7,5	11,0	23,6	5	-	2
Q9CZD3	Glycyl-tRNA synthetase	<i>Gars</i>	-9,0	6,0	81,7	8	-	4	-28,0	14,0	81,7	26	-	8	-25,3	12,0	81,7	23	-	7
Q05186	Reticulocalbin-1	<i>Rcn1</i>	-20,0	13,0	38,0	11	-	5	-23,7	13,0	38,0	21	-	4	-27,5	18,0	38,0	24	-	6
D3Z7P3	Uncharacterized protein	<i>Gls</i>	-27,3	14,0	65,9	12	-	6	-37,3	17,0	65,9	28	2	8	-26,7	15,0	65,9	14	1	6
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	<i>Pgk1</i>	-4,1	4,0	44,4	1	-	1	-25,2	19,0	44,4	20	-	6	-40,9	34,0	44,4	35	-	10
P42208	Septin-2	<i>Sept2</i>	-32,3	21,0	41,4	9	-	5	-31,3	18,0	41,4	25	-	4	-42,2	28,0	41,4	21	-	7
P84089	Enhancer of rudimentary homolog	<i>Erh</i>	-10,9	37,0	12,2	12	-	3	-7,3	10,0	12,2	19	-	1	-15,3	26,0	12,2	24	-	2
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	<i>Rplp2</i>	-4,3	10,0	11,6	4	-	1	-28,8	69,0	11,6	45	-	5	-16,2	55,0	11,6	6	-	3
Q99JB2	Stomatin-like protein 2	<i>Stam12</i>	-30,1	22,0	38,3	17	-	5	-29,4	22,0	38,3	14	-	5	-41,3	26,0	38,3	23	-	7
P53994	Ras-related protein Rab-2A	<i>Rab2a</i>	-10,9	17,0	23,5	6	-	3	-24,7	33,0	23,5	12	-	5	-37,6	48,0	23,5	36	-	8
Q9CWE6	Oocyte-expressed protein homolog	<i>Ooep</i>	-9,4	18,0	18,4	41	-	3	-6,6	12,0	18,4	9	-	2	-5,3	12,0	18,4	4	-	2
Q9D051	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial	<i>Pdhb</i>	-7,5	10,0	38,8	5	-	3	-29,6	19,0	38,8	21	-	5	-28,8	25,0	38,8	28	-	7
O88544	COP9 signalosome complex subunit 4	<i>Cops4</i>	-7,5	10,0	38,8	5	-	3	-29,6	19,0	38,8	21	-	5	-28,8	25,0	38,8	28	-	7
Q60692	Proteasome subunit beta type-6	<i>Psmb6</i>	-6,2	8,0	25,3	11	-	2	-10,7	12,0	25,3	18	-	3	-21,6	28,0	25,3	24	-	6
O35459	Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase, mitochondrial	<i>Ech1</i>	-29,1	20,0	36,0	13	-	6	-22,9	19,0	36,0	15	-	4	-34,6	23,0	36,0	25	-	6
Q9D2G2-1	Isoform 1 of Dihydrodipicolylsine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex.	<i>Dlst</i>	-14,1	8,0	48,9	15	-	4	-26,0	21,0	48,9	18	-	7	-25,3	18,0	48,9	19	-	6
O08795-1	Isoform 1 of Glucosidase 2 subunit beta	<i>Prkcsb</i>	-13,7	6,0	58,7	13	-	4	-18,6	9,0	58,7	23	-	5	-14,3	6,0	58,7	15	-	4
P26039	Talin-1	<i>Tin1</i>	-40,3	5,0	269,5	10	-	9	-61,5	7,0	269,5	31	-	15	-30,5	3,0	269,5	10	-	7
Q64674	Spermidine synthase	<i>Srm</i>	-21,0	25,0	33,9	13	-	7	-22,0	20,0	33,9	22	-	6	-15,8	17,0	33,9	16	-	5
P35979	60S ribosomal protein L12	<i>Rpl12</i>	-6,0	9,0	17,7	2	-	1	-15,4	24,0	17,7	45	-	3	-10,4	18,0	17,7	4	-	2
Q9WVA3	Mitotic checkpoint protein BUB3	<i>Bub3</i>	-17,9	21,0	36,9	14	-	5	-27,1	27,0	36,9	21	-	7	-24,3	27,0	36,9	15	-	7
Q9JHI5	Isovaleryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Ivd</i>	-30,1	21,0	46,2	11	-	7	-17,6	22,0	46,2	16	-	7	-30,5	25,0	46,2	23	-	8
P00493	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	<i>Hprt1</i>	-13,8	16,0	24,5	12	-	3	-17,2	21,0	24,5	20	-	4	-16,8	21,0	24,5	18	-	4
Q9CXY6	Interleukin enhancer-binding factor 2	<i>Ilf2</i>	-21,8	21,0	42,9	14	-	6	-26,1	31,0	42,9	21	-	9	-19,7	17,0	42,9	15	-	5
Q9CT10	Ran-binding protein 3	<i>Ranbp3</i>	-21,9	11,0	52,4	15	-	4	-26,1	16,0	52,4	17	-	6	-26,4	14,0	52,4	17	-	5
Q61205	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit gamma	<i>Pafah1b3</i>	-11,1	24,0	25,8	18	-	4	-14,7	25,0	25,8	14	-	5	-14,6	24,0	25,8	17	-	4
Q9CPT4	UPF0556 protein C19orf10 homolog	<i>D17Wsu104e</i>	-7,2	12,0	17,9	4	-	2	-12,0	21,0	17,9	19	-	3	-16,3	28,0	17,9	26	-	4
Q3TS82	Putative uncharacterized protein	<i>Zbed3</i>	-18,2	24,0	25,5	37	-	4	-8,0	10,0	25,5	7	-	2	-8,1	16,0	25,5	4	-	3

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	% Protéine		Poid	Pep		log(E value)	% Protéine		Poid	Pep		log(E value)	% Protéine		Poid	Pep		
			Couverte	Moléculaire (KDa)	Spéctres	Uniq	Pep Uniq		Couverte	Moléculaire (KDa)	Spéctres	Uniq	Pep Uniq		Couverte	Moléculaire (KDa)	Spéctres	Uniq	Pep Uniq	
Q9QXT0	Protein canopy homolog 2	<i>Cnpy2</i>	-6,2	8,0	20,7	2	-	1	-17,1	35,0	20,7	13	-	5	-19,7	35,0	20,7	33	-	5
O35685	Nuclear migration protein nudC	<i>Nudc</i>	-17,4	18,0	38,2	20	-	6	-19,6	20,0	38,2	12	-	6	-22,7	24,0	38,2	16	-	7
P61957	Small ubiquitin-related modifier 2	<i>Sumo2</i>	-4,2	12,0	10,8	13	-	1	-3,9	12,0	10,8	20	-	1	-4,0	12,0	10,8	14	-	1
P51174	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Acadl</i>	-21,9	14,0	47,8	14	-	5	-14,8	8,0	47,8	19	-	3	-23,8	15,0	47,8	14	-	5
Q9DBZ5-1	Isoform 1 of Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit K	<i>Eif3k</i>	-11,4	24,0	25,0	9	-	4	-26,5	32,0	25,0	21	-	6	-25,8	26,0	25,0	17	-	5
Q62465	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog	<i>Vat1</i>	-22,1	13,0	43,0	18	-	4	-15,2	9,0	43,0	10	-	3	-26,0	16,0	43,0	19	-	5
O88696	Putative AIP-dependent Clp protease proteolytic subunit, mitochondrial	<i>Clpp</i>	-17,9	21,0	29,7	11	-	4	-28,4	31,0	29,7	18	-	6	-35,2	32,0	29,7	18	-	7
Q9EPK6	Nucleotide exchange factor Sil1	<i>Sil1</i>	-33,2	23,0	52,3	29	-	9	-14,1	11,0	52,3	12	-	4	-33,2	23,0	52,3	29	-	9
O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	<i>Pgrmc1</i>	-14,8	21,0	21,6	9	-	4	-25,7	23,0	21,6	24	-	5	-26,2	23,0	21,6	14	-	4
O08810	116 kDa U5 small nuclear ribonucleoprotein component	<i>Eftud2</i>	-10,2	5,0	109,2	5	-	4	-30,6	9,0	109,2	24	-	7	-27,8	8,0	109,2	18	-	6
P48678-1	Isoform A of Prelamin-A/C	<i>Lmna</i>	-11,1	5,0	74,1	3	-	3	-35,5	19,0	74,1	22	-	11	-31,4	15,0	74,1	21	-	9
Q9DB15	39S ribosomal protein L12, mitochondrial	<i>Mrpl12</i>	-15,3	24,0	21,6	11	-	4	-18,1	24,0	21,6	19	-	4	-15,1	24,0	21,6	16	-	4
P97855	Ras GTPase-activating protein-binding protein 1	<i>G3bp1</i>	-16,5	9,0	51,7	11	2	4	-19,0	9,0	51,7	21	-	4	-19,4	9,0	51,7	13	-	4
Q60865	Caprin-1	<i>Caprin1</i>	-9,9	4,0	78,0	9	-	3	-13,3	4,0	78,0	17	-	3	-18,7	6,0	78,0	19	-	4
P34022	Ran-specific GTPase-activating protein	<i>Ranbp1</i>	-9,8	16,0	23,5	10	-	3	-8,2	10,0	23,5	16	-	2	-9,5	16,0	23,5	19	-	3
Q8BGC4	Zinc-binding alcohol dehydrogenase domain-containing protein 2	<i>Zadh2</i>	-16,5	14,0	40,4	15	-	4	-5,8	3,0	40,4	12	-	1	-14,9	14,0	40,4	18	-	4
P45376	Aldose reductase	<i>Akr1b1</i>	-5,1	4,0	35,6	2	-	1	-13,4	13,0	35,6	26	-	4	-19,3	17,0	35,6	17	-	5
P10639	Thioredoxin	<i>Txn</i>	-8,9	31,0	11,6	13	-	3	-9,4	29,0	11,6	15	-	3	-13,0	31,0	11,6	16	-	4
Q9R1P3	Proteasome subunit beta type-2	<i>Psmb2</i>	-11,3	15,0	22,8	6	-	2	-15,0	21,0	22,8	15	-	3	-17,9	30,0	22,8	23	-	4
Q6ZQ38	Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1	<i>Cand1</i>	-17,9	5,0	136,1	11	-	5	-28,3	9,0	136,1	31	-	9	-6,6	2,0	136,1	2	-	2
P97372	Proteasome activator complex subunit 2	<i>Psme2</i>	-15,3	17,0	27,0	10	-	3	-15,6	17,0	27,0	17	-	3	-16,0	17,0	27,0	17	-	3
Q920A5	Retinoid-inducible serine carboxypeptidase	<i>Scpep1</i>	-5,0	3,0	50,8	1	-	1	-13,0	5,0	50,8	21	-	2	-14,1	9,0	50,8	21	-	3
Q9DAR7	Scavenger mRNA-decapping enzyme Dcp5	<i>Dcps</i>	-9,9	8,0	38,9	13	-	2	-8,9	8,0	38,9	18	-	2	-14,1	9,0	50,8	21	-	3
Q9CZU6	Citrate synthase, mitochondrial	<i>Cs</i>	-2,7	2,0	51,6	1	-	1	-23,8	12,0	51,6	26	-	6	-16,8	13,0	51,6	16	-	5
Q8R081	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	<i>Hnrnpl</i>	-5,4	4,0	63,8	4	-	2	-21,2	14,0	63,8	23	-	6	-25,9	11,0	63,8	16	-	5
Q9WUK2-1	Isoform Long of Eukaryotic translation initiation factor 4H	<i>Eif4h</i>	-11,9	23,0	27,2	16	-	4	-11,8	23,0	27,2	22	-	4	-7,8	18,0	27,2	4	-	3
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial	<i>Cox5a</i>	-7,7	10,0	16,0	9	-	1	-15,5	17,0	16,0	15	-	3	-12,2	16,0	16,0	18	-	2
P34884	Macrophage migration inhibitory factor	<i>Mif</i>	-4,1	9,0	12,4	4	-	1	-8,0	17,0	12,4	22	-	2	-7,1	17,0	12,4	16	-	2
Q91YW3	DnaJ homolog subfamily C member 3	<i>Dnajc3</i>	-4,7	4,0	57,3	4	-	2	-9,9	11,0	57,3	12	-	5	-24,5	21,0	57,3	25	-	7
P46664	Adenylosuccinate synthetase isozyme 2	<i>Adss</i>	-10,7	11,0	49,9	19	-	4	-8,3	7,0	49,9	7	-	3	-19,3	15,0	49,9	15	-	5
O35295	Transcriptional activator protein Pur-beta	<i>Purb</i>	-13,9	12,0	33,8	6	-	2	-21,1	21,0	33,8	10	-	4	-29,4	24,0	33,8	25	-	5
P62192	26S protease regulatory subunit 4	<i>Psmc1</i>	-10,9	11,0	49,1	11	-	4	-23,3	14,0	49,1	13	4	5	-16,4	13,0	49,1	10	4	5
P56399	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 5	<i>Usp5</i>	-3,0	1,0	95,7	2	-	1	-20,9	11,0	95,7	15	-	7	-18,2	7,0	95,7	24	-	5
P62715	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit beta isoform	<i>Ppp2cb</i>	-6,9	8,0	35,5	8	-	2	-13,3	13,0	35,5	13	-	3	-28,5	22,0	35,5	20	-	5
Q9JMA1	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 14	<i>Usp14</i>	-14,8	12,0	55,9	11	-	4	-17,9	11,0	55,9	14	-	4	-16,4	11,0	55,9	16	-	4
Q9QZM0	Ubiquilin-2	<i>Ubqln2</i>	-12,7	4,0	67,2	5	-	2	-9,1	2,0	67,2	12	-	1	-21,4	9,0	67,2	13	2	4
Q8R317-1	Isoform 1 of Ubiquilin-1	<i>Ubqln1</i>	-4,8	7,0	61,8	3	-	2	-8,8	9,0	61,8	5	-	3	-15,6	7,0	61,8	6	2	3
Q6P1F6	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory subunit B alpha isoform	<i>Ppp2r2a</i>	-8,0	4,0	51,6	7	-	2	-14,4	12,0	51,6	13	-	4	-28,8	18,0	51,6	20	-	7
Q3UJU1	Methylmalonyl-Coenzyme A mutase	<i>Mut</i>	-34,4	15,0	82,7	15	-	9	-11,8	6,0	82,7	10	-	4	-38,2	18,0	82,7	15	-	10
Q9JHW2	Omega-amidase NIT2	<i>Nit2</i>	-25,9	28,0	30,4	14	-	5	-18,7	29,0	30,4	13	-	6	-27,6	39,0	30,4	13	-	8

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
Q9QYR9	Acyl-coenzyme A thioesterase 2, mitochondrial	<i>Acot2</i>	-24,0	15,0	49,5	27	2	6	-10,4	5,0	49,5	5	-	2	-10,3	7,0	49,5	5	-	3
O55137	Acyl-coenzyme A thioesterase 1	<i>Acot1</i>	-23,8	16,0	46,0	26	2	6	-10,4	5,0	46,0	5	-	2	-10,3	8,0	46,0	5	-	3
Q91WD5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 2, mitochondrial	<i>Ndufs2</i>	-21,5	16,0	52,5	19	-	7	-10,8	9,0	52,5	9	-	4	-19,3	11,0	52,5	12	-	5
Q9QUR6	Prolyl endopeptidase	<i>Prep</i>	-29,1	14,0	80,6	10	-	7	-21,9	8,0	80,6	13	-	4	-36,5	12,0	80,6	17	-	7
Q9CQE8	UPF0568 protein C14orf166 homolog		-14,0	15,0	28,1	9	-	3	-21,0	26,0	28,1	21	-	5	-18,4	19,0	28,1	10	-	4
Q8VIJ6	Splicing factor, proline- and glutamine-rich	<i>Sfpq</i>	-2,9	2,0	75,3	1	-	1	-11,5	7,0	75,3	24	-	4	-11,4	4,0	75,3	15	-	3
Q99KP6-1	Isoform 1 of Pre-mRNA-processing factor 19	<i>Prpf19</i>	-14,1	13,0	55,1	7	-	5	-14,7	12,0	55,1	8	-	5	-42,7	25,0	55,1	24	-	9
Q9D0M3-1	Isoform 1 of Cytochrome c1, heme protein, mitochondrial	<i>Cyc1</i>	-15,5	24,0	35,2	6	-	5	-16,5	15,0	35,2	12	-	3	-26,1	29,0	35,2	21	-	6
O89023	Tripeptidyl-peptidase 1	<i>Tpp1</i>	-8,4	6,0	61,2	3	-	2	-12,1	6,0	61,2	11	-	2	-16,8	8,0	61,2	25	-	3
Q9CWZ3-1	Isoform 1 of RNA-binding protein 8A	<i>Rbm8a</i>	-17,8	32,0	19,8	9	-	3	-19,6	32,0	19,8	15	-	3	-23,0	32,0	19,8	14	-	3
Q922B2	Aspartyl-tRNA synthetase, cytoplasmic	<i>Dars</i>	-28,4	21,0	57,0	13	-	9	-11,5	8,0	57,0	5	-	4	-48,5	30,0	57,0	19	-	11
P70670-1	Isoform 2 of Nascent polypeptide-associated complex subunit alpha. muscle-specific form	<i>Naca</i>	-21,5	3,0	220,3	9	-	5	-30,8	3,0	220,3	22	-	5	-18,7	1,0	220,3	6	-	3
Q9CPV4-1	Isoform 1 of Glyoxalase domain-containing protein 4	<i>Glad4</i>	-27,4	37,0	33,2	10	-	8	-23,4	26,0	33,2	12	-	6	-25,0	35,0	33,2	15	-	7
Q5XJY5	Coatomer subunit delta	<i>Arcn1</i>	-14,4	10,0	57,1	11	-	5	-16,9	10,0	57,1	10	-	5	-15,7	10,0	57,1	16	-	5
P70288	Histone deacetylase 2	<i>Hdac2</i>	-8,7	8,0	55,2	14	1	3	-8,8	10,0	55,2	10	2	3	-7,9	8,0	55,2	5	1	3
O09106	Histone deacetylase 1	<i>Hdac1</i>	-11,2	9,0	54,9	11	1	3	-7,5	6,0	54,9	8	1	2	-17,7	13,0	54,9	10	2	4
P26638	Seryl-tRNA synthetase, cytoplasmic	<i>Sars</i>	-22,7	14,0	58,3	9	-	5	-21,7	18,0	58,3	13	-	7	-30,5	22,0	58,3	15	-	8
Q9CS42	Ribose-phosphate pyrophosphokinase 2	<i>Prps2</i>	-16,6	19,0	34,7	5	-	4	-27,2	25,0	34,7	22	-	5	-22,1	19,0	34,7	10	-	4
Q9CR86	Calcium-regulated heat stable protein 1	<i>Carhsp1</i>	-6,5	10,0	16,0	6	-	1	-6,0	10,0	16,0	22	-	1	-5,1	10,0	16,0	9	-	1
O55023	Inositol monophosphatase 1	<i>Impa1</i>	-19,6	20,0	30,3	10	-	5	-8,1	7,0	30,3	8	-	2	-17,1	19,0	30,3	16	1	5
Q9DBF1-1	Isoform 1 of Alpha-aminoadipic semialdehyde dehydrogenase	<i>Aldh7a1</i>	-12,9	5,0	58,7	10	-	2	-17,4	10,0	58,7	13	-	4	-19,3	7,0	58,7	13	-	3
Q9JKX6	ADP-sugar pyrophosphatase	<i>Nudt5</i>	-19,2	24,0	23,9	18	-	5	-10,6	18,0	23,9	9	-	3	-19,3	7,0	58,7	13	-	3
Q91V92	ATP-citrate synthase	<i>Acly</i>	-3,4	1,0	119,5	1	-	1	-35,4	9,0	119,5	30	-	8	-15,0	4,0	119,5	5	-	3
P54923	[Protein ADP-ribosylarginine] hydrolase	<i>Adprh</i>	-17,8	22,0	40,0	9	-	5	-19,2	25,0	40,0	15	-	5	-16,9	22,0	40,0	12	-	5
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	<i>Pgd</i>	-2,8	3,0	53,1	1	-	1	-33,4	29,0	53,1	27	-	10	-8,6	5,0	53,1	8	-	2
Q9JK81	UPF0160 protein MYG1, mitochondrial	<i>Myg1</i>	-16,3	19,0	42,6	10	-	6	-15,2	14,0	42,6	13	-	5	-16,6	17,0	42,6	12	-	5
O70591	Prefoldin subunit 2	<i>Pfdn2</i>	-14,0	29,0	16,4	10	-	4	-11,8	22,0	16,4	14	-	3	-16,6	32,0	16,4	11	-	4
Q9CPU0	Lactoylglutathione lyase	<i>Glo1</i>	-12,3	19,0	20,7	11	-	3	-11,0	19,0	20,7	13	-	3	-14,5	34,0	20,7	11	-	4
P62814	V-type proton ATPase subunit B, brain isoform	<i>Atp6v1b2</i>	-13,8	8,0	56,4	6	-	3	-13,2	7,0	56,4	9	-	3	-40,9	23,0	56,4	20	-	9
P50516-1	Isoform 1 of V-type proton ATPase catalytic subunit A	<i>Atp6v1a</i>	-10,8	4,0	68,2	6	-	2	-25,8	11,0	68,2	13	-	5	-28,7	18,0	68,2	16	-	7
Q8BWY3	Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1	<i>Etf1</i>	-23,5	16,0	48,9	8	-	6	-22,6	12,0	48,9	15	-	5	-17,2	10,0	48,9	12	-	4
P49312-1	Isoform Long of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	<i>Hnmpa1</i>	-5,3	4,0	34,1	1	-	1	-20,7	16,0	34,1	30	-	4	-6,4	4,0	34,1	4	-	1
Q99MN1	Lysyl-tRNA synthetase	<i>Kars</i>	-29,9	12,0	67,7	5	-	5	-19,9	7,0	67,7	12	-	3	-37,4	18,0	67,7	17	-	8
Q91ZA3	Propionyl-CoA carboxylase alpha chain, mitochondrial	<i>Pcca</i>	-22,1	11,0	79,8	8	-	6	-12,9	4,0	79,8	6	-	3	-35,5	14,0	79,8	20	-	8
Q4VAA2-1	Isoform 1 of Protein CDV3	<i>Cdv3</i>	-8,4	18,0	29,6	5	-	2	-11,1	18,0	29,6	20	-	2	-7,1	10,0	29,6	9	-	1
P50171-1	Isoform Short of Estradiol 17-beta-dehydrogenase 8	<i>Hsd17b8</i>	-16,9	20,0	26,5	11	-	4	-16,9	20,0	26,5	13	-	4	-24,0	35,0	26,5	10	-	6
Q9CQX2	Cytochrome b5 type B	<i>Cyb5b</i>	-9,6	25,0	16,2	6	-	3	-11,0	25,0	16,2	13	-	3	-14,9	34,0	16,2	15	-	4
Q99JY9	Actin-related protein 3	<i>Actr3</i>	-9,7	11,0	47,2	6	-	3	-8,9	8,0	47,2	11	-	2	-23,8	28,0	47,2	17	-	8
Q99LP6	GrpE protein homolog 1, mitochondrial	<i>Grpe1</i>	-3,9	5,0	24,2	3	-	1	-11,2	24,0	24,2	19	-	4	-6,1	9,0	24,2	12	-	2
Q8R326-1	Isoform 1 of Paraspeckle component 1	<i>Pspc1</i>	-14,1	6,0	58,6	10	-	3	-17,3	9,0	58,6	15	-	4	-16,8	12,0	58,6	9	-	5

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9JKB1	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L3	<i>Uchl3</i>	-13,6	15,0	26,1	11	-	3	-20,8	22,0	26,1	9	-	4	-14,4	24,0	26,1	13	-	4
P70349	Histidine triad nucleotide-binding protein 1	<i>Hint1</i>	-9,3	11,0	13,7	8	-	1	-8,7	11,0	13,7	16	-	1	-8,3	11,0	13,7	9	-	1
Q9D554	Splicing factor 3A subunit 3	<i>Sf3a3</i>	-13,7	8,0	58,7	10	-	4	-7,2	4,0	58,7	7	-	2	-15,6	10,0	58,7	16	-	5
Q8BRF7-1	Isoform 1 of Sec1 family domain-containing protein 1	<i>Scfd1</i>	-21,4	9,0	72,2	7	-	4	-23,0	15,0	72,2	15	-	6	-12,3	6,0	72,2	11	-	3
Q64433	10 kDa heat shock protein, mitochondrial	<i>Hspe1</i>	-8,3	13,0	10,9	4	-	1	-14,6	25,0	10,9	24	-	2	-8,0	13,0	10,9	5	-	1
A2ADY9	Protein DDI1 homolog 2	<i>Ddi2</i>	-10,5	7,0	44,5	5	-	2	-23,6	13,0	44,5	13	-	3	-24,0	26,0	44,5	15	-	6
Q8K4Z3	Apolipoprotein A-I-binding protein	<i>Apoa1bp</i>	-12,9	10,0	30,9	10	-	2	-15,1	10,0	30,9	11	-	2	-8,9	10,0	30,9	12	-	2
Q9CQM9	Glutaredoxin-3	<i>Glx3</i>	-16,0	20,0	37,7	10	-	6	-11,9	13,0	37,7	11	-	4	-19,9	20,0	37,7	11	-	7
Q60605-1	Isoform Non-muscle of Myosin light polypeptide 6	<i>Myl6</i>	-3,6	8,0	16,8	1	-	1	-29,8	55,0	16,8	29	-	7	-4,4	8,0	16,8	2	-	1
P61327	Protein mago nashi homolog	<i>Magoh</i>	-3,0	6,0	17,1	4	-	1	-9,3	23,0	17,1	10	-	4	-12,4	23,0	17,1	18	-	4
Q8R5C5	Beta-centractin	<i>Actr1b</i>	-7,9	6,0	42,2	9	-	2	-12,0	18,0	42,2	13	-	4	-15,2	14,0	42,2	9	1	3
Q9CRD2	Tetratricopeptide repeat protein 35	<i>Ttc35</i>	-18,3	18,0	34,8	6	-	4	-21,7	22,0	34,8	12	-	5	-27,5	22,0	34,8	13	-	5
Q64GA5	Egg and early embryo abundant protein	<i>Pla2g4c</i>	-30,8	14,0	67,7	26	-	8	-5,8	4,0	67,7	2	-	2	-5,0	2,0	67,7	3	-	1
Q8BQ47	Protein canopy homolog 4	<i>Cnpy4</i>	-3,0	4,0	28,0	3	-	1	-2,9	4,0	28,0	5	-	1	-18,3	26,0	28,0	23	-	7
Q9D8B3	Charged multivesicular body protein 4b	<i>Chmp4b</i>	-8,4	11,0	24,8	12	-	2	-9,3	11,0	24,8	8	-	2	-7,8	11,0	24,8	10	-	2
Q9Z1Z2	Serine-threonine kinase receptor-associated protein	<i>Strap</i>	-19,6	12,0	38,3	5	-	3	-24,2	16,0	38,3	6	-	4	-28,0	24,0	38,3	19	-	6
Q9R062	Glycogenin-1	<i>Gyg1</i>	-14,0	8,0	37,3	5	-	2	-21,5	14,0	37,3	16	-	4	-18,6	11,0	37,3	9	-	3
Q61576	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP10	<i>Fkbp10</i>	-6,0	5,0	64,5	3	-	2	-12,4	10,0	64,5	9	-	4	-21,2	17,0	64,5	18	-	7
Q9CQU0	Thioredoxin domain-containing protein 12	<i>Txndc12</i>	-7,4	17,0	19,0	4	-	2	-18,7	25,0	19,0	12	-	3	-18,4	25,0	19,0	14	-	4
Q3U0V1	Far upstream element-binding protein 2	<i>Khsrp</i>	-18,2	10,0	76,7	7	-	5	-17,5	10,0	76,7	14	-	5	-12,3	12,0	76,7	8	-	5
P63085	Mitogen-activated protein kinase 1	<i>Mapk1</i>	-10,4	9,0	41,2	4	1	3	-13,2	11,0	41,2	6	2	3	-19,0	24,0	41,2	12	4	6
Q63844	Mitogen-activated protein kinase 3	<i>Mapk3</i>	-10,2	14,0	42,9	5	2	4	-6,1	6,0	42,9	2	1	2	-9,2	14,0	42,9	5	2	4
Q8BH95	Enoyl-CoA hydratase, mitochondrial	<i>Echs1</i>	-2,7	3,0	31,4	1	-	1	-16,9	19,0	31,4	10	-	4	-21,9	24,0	31,4	18	-	5
Q9DBG5	Perilipin-3	<i>Plin3</i>	-7,8	9,0	47,1	3	-	3	-17,2	16,0	47,1	10	-	5	-14,0	13,0	47,1	16	-	4
Q35593	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14	<i>Psmc14</i>	-17,9	24,0	34,5	5	-	4	-23,9	29,0	34,5	16	-	5	-10,4	12,0	34,5	8	-	2
Q9CYZ2	Tumor protein D54	<i>Tpd52l2</i>	-15,9	21,0	23,9	6	-	3	-24,6	21,0	23,9	11	-	3	-17,1	13,0	23,9	11	-	2
Q9D880	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM50	<i>Timm50</i>	-9,8	9,0	39,7	10	-	3	-9,8	9,0	39,7	11	-	3	-10,3	10,0	39,7	7	-	3
Q9D1J3	SAP domain-containing ribonucleoprotein	<i>Sarnp</i>	-15,0	22,0	23,4	12	-	4	-15,9	22,0	23,4	13	-	4	-9,5	15,0	23,4	3	-	2
Q9CPY7-1	Isoform 1 of Cytosol aminopeptidase	<i>Lap3</i>	-5,6	5,0	56,0	3	-	2	-25,7	15,0	56,0	16	-	6	-15,6	13,0	56,0	9	-	5
Q99L45	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 2	<i>Eif2s2</i>	-11,9	10,0	38,0	6	-	3	-10,0	7,0	38,0	13	-	2	-17,7	14,0	38,0	9	-	4
Q99PU5	Long-chain-fatty-acid-CoA ligase ACSBG1	<i>Acsbg1</i>	-10,5	4,0	80,3	3	-	3	-14,7	5,0	80,3	5	-	3	-35,1	16,0	80,3	20	-	9
Q99LB6-2	Isoform 2 of Methionine adenosyltransferase 2 subunit beta	<i>Mat2b</i>	-15,7	15,0	36,1	7	-	3	-17,5	20,0	36,1	15	-	4	-13,2	15,0	36,1	6	-	3
Q3THK7	GMP synthase [glutamine-hydrolyzing]	<i>Gmps</i>	-16,5	8,0	76,6	15	-	5	-11,5	5,0	76,6	8	-	3	-6,7	3,0	76,6	4	-	2
Q61584-1	Isoform 1 of Fragile X mental retardation syndrome-related protein 1	<i>Fxr1</i>	-7,7	5,0	76,1	5	-	3	-14,0	9,0	76,1	13	-	4	-11,2	6,0	76,1	9	-	3
Q04447	Creatine kinase B-type	<i>Ckb</i>	-18,6	19,0	42,6	14	-	5	-10,7	10,0	42,6	7	-	3	-6,7	6,0	42,6	6	-	2
Q35215	D-dopachrome decarboxylase	<i>Ddt</i>	-5,1	21,0	13,0	4	-	2	-6,9	21,0	13,0	8	-	2	-19,2	42,0	13,0	15	-	4
Q9Z2N8	Actin-like protein 6A	<i>Actl6a</i>	-15,2	11,0	47,3	9	-	4	-13,4	9,0	47,3	8	-	3	-16,8	9,0	47,3	10	-	3
Q9JKV1	Proteasomal ubiquitin receptor ADRM1	<i>Adrm1</i>	-3,7	3,0	41,9	6	-	1	-3,9	3,0	41,9	15	-	1	-4,2	3,0	41,9	6	-	1
Q9CXW4	60S ribosomal protein L11	<i>Rpl11</i>	-3,5	7,0	20,2	2	-	1	-11,5	19,0	20,2	20	-	3	-6,9	12,0	20,2	5	-	2
P54728	UV excision repair protein RAD23 homolog B	<i>Rad23b</i>	-8,7	8,0	43,4	9	-	3	-8,3	5,0	43,4	8	-	2	-11,0	9,0	43,4	10	-	3

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9R1T2-1	Isoform 1 of SUMO-activating enzyme subunit 1	<i>Sae1</i>	-12,5	18,0	38,5	11	-	4	-11,6	13,0	38,5	5	-	3	-17,5	17,0	38,5	10	-	4
P62869	Transcription elongation factor B polypeptide 2	<i>Tceb2</i>	-9,4	24,0	13,1	7	-	3	-17,4	49,0	13,1	13	-	4	-13,3	57,0	13,1	6	-	5
Q3TXJ4	Putative uncharacterized protein	<i>Sar1a</i>							-4,2	11,0	22,2	3	-	2	-11,0	23,0	22,2	17	2	3
Q99LD8	N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	<i>Ddah2</i>	-9,0	16,0	29,5	5	-	3	-4,7	4,0	29,5	2	-	1	-31,9	33,0	29,5	19	-	6
P59325	Eukaryotic translation initiation factor 5	<i>Eif5</i>	-5,3	9,0	48,8	3	-	3	-19,0	13,0	48,8	15	-	5	-17,3	17,0	48,8	8	-	6
P30412	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase C	<i>Ppic</i>	-8,1	11,0	22,7	5	-	2	-13,9	23,0	22,7	19	-	4	-4,1	6,0	22,7	2	-	1
O70400	PDZ and LIM domain protein 1	<i>Pdim1</i>	-3,3	4,0	35,7	1	-	1	-19,7	19,0	35,7	22	-	5	-6,7	8,0	35,7	3	-	2
O35639	Annexin A3	<i>Anxa3</i>	-8,1	9,0	36,3	4	-	2	-17,3	20,0	36,3	10	-	5	-13,0	17,0	36,3	12	-	4
O88487	Cytoplasmic dynein 1 intermediate chain 2	<i>Dync1i2</i>	-17,9	5,0	68,3	5	-	2	-18,4	5,0	68,3	9	-	2	-18,6	5,0	68,3	11	-	2
Q3UM45	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 7	<i>Ppp1r7</i>	-8,3	8,0	41,2	5	-	3	-7,7	8,0	41,2	5	-	3	-15,9	15,0	41,2	15	-	5
P25206	DNA replication licensing factor MCM3	<i>Mcm3</i>	-5,6	3,0	91,4	3	-	2	-16,5	6,0	91,4	18	-	4	-8,4	3,0	91,4	4	-	2
P58389	Serine/threonine-protein phosphatase 2A activator	<i>Ppp2r4</i>	-11,5	10,0	36,6	11	-	3	-11,2	14,0	36,6	11	-	4	-5,8	6,0	36,6	3	-	2
P47968	Ribose-5-phosphate isomerase	<i>Rpia</i>	-6,6	9,0	32,3	2	-	2	-14,5	21,0	32,3	7	-	4	-26,3	21,0	32,3	16	-	4
Q9CQ38	Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase, phosphoribosylaminoribosylaminoimidazole, succinocarboxamide	<i>Paics</i>	-9,6	11,0	46,9	5	-	4	-23,7	14,0	46,9	17	-	7	-5,2	5,0	46,9	2	-	2
Q99KJ8	Dynactin subunit 2	<i>Dctn2</i>	-6,4	8,0	44,0	2	-	2	-10,5	11,0	44,0	5	-	4	-24,7	20,0	44,0	17	-	6
O35864	COP9 signalosome complex subunit 5	<i>Cops5</i>	-13,3	20,0	37,4	5	-	4	-11,9	22,0	37,4	9	-	4	-17,7	13,0	37,4	10	-	3
Q9QZD9	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I	<i>Eif3i</i>	-13,3	14,0	36,4	5	-	4	-13,4	14,0	36,4	13	-	4	-8,5	7,0	36,4	5	-	2
Q8K4Z5	Splicing factor 3A subunit 1	<i>Sf3a1</i>	-12,1	3,0	88,4	9	-	2	-11,2	3,0	88,4	7	-	2	-10,8	3,0	88,4	7	-	2
Q9Z219	Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit beta, mitochondrial	<i>Sucla2</i>	-12,1	3,0	88,4	9	-	2	-11,2	3,0	88,4	7	-	2	-23,7	14,0	50,0	16	-	4
Q61081	Hsp90 co-chaperone Cdc37	<i>Cdc37</i>	-17,2	11,0	44,5	6	-	3	-16,8	16,0	44,5	5	-	4	-21,4	16,0	44,5	12	-	4
Q8CCS6-1	Isoform 1 of Polyadenylate-binding protein 2	<i>Pabpn1</i>	-13,3	8,0	32,2	7	-	2	-14,1	11,0	32,2	8	-	3	-12,8	13,0	32,2	8	-	3
Q5SUR0	Phosphoribosylformylglycinamide synthase	<i>Pfas</i>	-11,8	2,0	144,4	3	-	3	-17,3	4,0	144,4	15	-	4	-14,2	2,0	144,4	5	-	3
Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	<i>Esd</i>	-12,2	20,0	31,2	9	-	4	-7,1	11,0	31,2	5	-	2	-7,1	12,0	31,2	9	-	2
P83940	Transcription elongation factor B polypeptide 1	<i>Tceb1</i>	-9,0	28,0	12,4	2	-	2	-18,0	41,0	12,4	12	-	4	-17,7	41,0	12,4	9	-	3
P24668	Cation-dependent mannose-6-phosphate receptor	<i>M6pr</i>	-7,5	12,0	31,1	4	-	2	-7,4	12,0	31,1	5	-	2	-17,3	17,0	34,9	6	-	4
O89079	Coatamer subunit epsilon	<i>Cope</i>	-3,1	3,0	34,5	1	-	1	-18,0	22,0	34,5	8	-	4	-30,7	22,0	34,5	14	-	5
P62962	Profilin-1	<i>Pfn1</i>	-5,8	9,0	14,9	1	-	1	-21,1	43,0	14,9	17	-	4	-8,8	21,0	14,9	5	-	2
Q9D1M0	Protein SEC13 homolog	<i>Sec13</i>	-7,3	8,0	35,5	5	-	2	-10,6	12,0	35,5	6	-	3	-15,6	19,0	35,5	11	-	4
Q8K310	Matrin-3	<i>Matr3</i>	-12,4	6,0	94,5	6	-	4	-2,7	1,0	94,5	1	-	1	-27,1	11,0	94,5	15	-	7
O88958	Glucosamine-6-phosphate isomerase 1	<i>Gnpda1</i>	-8,3	8,0	32,4	3	-	2	-10,4	14,0	32,4	9	-	3	-10,4	14,0	32,4	10	-	3
Q9Z1F9	SUMO-activating enzyme subunit 2	<i>Uba2</i>	-7,6	6,0	70,4	3	-	3	-9,3	6,0	70,4	4	-	3	-21,3	8,0	70,4	15	-	4
Q99JX4	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit M	<i>Eif3m</i>	-7,4	8,0	42,4	8	-	3	-12,5	8,0	42,4	9	-	2	-13,4	10,0	42,4	5	-	3
P62307	Small nuclear ribonucleoprotein F	<i>Snrpf</i>	-7,1	14,0	9,6	7	-	1	-8,3	14,0	9,6	6	-	1	-8,7	14,0	9,6	8	-	1
P62878	E3 ubiquitin-protein ligase RBX1	<i>Rbx1</i>	-8,9	17,0	12,2	5	-	2	-15,0	17,0	12,2	11	-	2	-11,1	17,0	12,2	5	-	2
Q9JHR7	Insulin-degrading enzyme	<i>Ide</i>	-7,3	3,0	117,6	3	-	3	-15,2	4,0	117,6	12	-	4	-13,6	6,0	117,6	6	-	5
P62627	Dynein light chain roadblock-type 1	<i>Dynlrb1</i>	-7,7	21,0	10,9	7	-	2	-9,4	38,0	10,9	11	-	3	-8,0	21,0	10,9	3	-	2
P28667	MARCKS-related protein	<i>Marcks1l</i>	-6,2	7,0	20,1	5	-	1	-6,3	7,0	20,1	6	-	1	-6,2	7,0	20,1	9	-	1
P62500-1	Isoform 1 of TSC22 domain family protein 1	<i>Tsc22d1</i>	-6,3	1,0	109,6	7	-	1	-4,4	1,0	109,6	6	-	1	-5,1	1,0	109,6	7	-	1
E9Q7G0	Uncharacterized protein	<i>Numa1</i>	-3,3	1,0	235,3	2	-	2	-23,6	3,0	235,3	12	-	7	-8,3	1,0	235,3	6	-	3
D3Z1M3	Uncharacterized protein	<i>Mlec</i>	-7,0	4,0	32,3	2	-	1	-10,5	8,0	32,3	10	-	2	-13,8	14,0	32,3	8	-	3

ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	IS						RMS						FA					
			log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Pep Spécif		log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Pep Spécif		log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Pep Spécif				
						Spectres	Uniq				Spectres	Uniq				Spectres	Uniq	Spectres	Uniq	
Q3UHX2	28 kDa heat- and acid-stable phosphoprotein	<i>Pdap1</i>	-4,9	7,0	20,5	6	-	1	-12,8	15,0	20,5	8	-	2	-16,7	16,0	20,5	6	-	3
Q3U8F5	Putative uncharacterized protein	<i>Psmc12</i>	-6,7	5,0	52,7	3	-	2	-15,8	12,0	52,7	10	-	5	-16,4	9,0	52,7	7	-	4
P70697	Uroporphyrinogen decarboxylase	<i>Urod</i>	-7,7	7,0	40,6	6	-	2	-6,5	7,0	40,6	6	-	2	-14,7	13,0	40,6	8	-	4
Q3V122	Putative uncharacterized protein	<i>Mcm7</i>	-30,0	15,0	81,2	17	-	9	-3,5	2,0	81,2	1	-	1	-3,6	3,0	81,2	2	-	2
P61924	Coatomeer subunit zeta-1	<i>Copz1</i>	-9,7	13,0	20,1	3	-	2	-4,9	7,0	20,1	9	-	1	-9,0	13,0	20,1	8	-	2
P31938	Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1	<i>Map2k1</i>	-5,4	6,0	43,4	3	1	2	-8,0	9,0	43,4	7	-	3	-4,9	5,0	43,4	9	-	2
Q8CG76	Aflatoxin B1 aldehyde reductase member 2	<i>Akr7a2</i>	-12,5	12,0	40,5	4	-	3	-13,0	10,0	40,5	10	-	3	-9,0	10,0	40,5	6	-	3
Q62393-1	Isoform 1 of Tumor protein D52	<i>Tpd52</i>	-7,8	10,0	24,2	8	-	2	-11,9	10,0	24,2	5	-	2	-6,5	6,0	24,2	6	-	1
E9Q6U4	Uncharacterized protein	<i>Pfdn4</i>	-8,6	20,0	14,6	3	-	2	-12,3	29,0	14,6	12	-	3	-8,6	18,0	14,6	4	-	2
Q99LC3	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 10. mitochondrial	<i>Ndufa10</i>	-12,8	8,0	40,5	6	-	3	-5,4	3,0	40,5	3	-	1	-10,3	6,0	40,5	10	-	2
Q5FWK3	Rho GTPase-activating protein 1	<i>Arhgap1</i>	-8,4	7,0	50,3	5	-	3	-11,6	11,0	50,3	9	-	4	-13,4	8,0	50,3	5	-	3
Q9Z0S1	3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase 1	<i>Bpnt1</i>	-5,0	7,0	33,1	2	-	2	-3,1	3,0	33,1	2	-	1	-29,0	34,0	33,1	15	-	7
Q922Y1	UBX domain-containing protein 1	<i>Ubxn1</i>	-4,0	4,0	33,5	5	-	1	-4,2	4,0	33,5	8	-	1	-7,6	14,0	33,5	6	-	3
Q8BK64	Activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1	<i>Ahsa1</i>	-3,4	3,0	38,0	1	-	1	-15,8	23,0	38,0	14	-	5	-9,8	10,0	38,0	4	-	2
P01942	Hemoglobin subunit alpha	<i>Hba</i>	-7,7	16,0	15,0	7	-	2	-3,3	10,0	15,0	2	-	1	-5,7	10,0	15,0	10	-	1
Q9Z1D1	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit G	<i>Eif3g</i>	-12,2	12,0	35,5	7	-	3	-9,6	9,0	35,5	5	-	3	-11,4	9,0	35,5	7	-	3
Q3UEB3-2	Isoform 2 of Poly(U)-binding-splicing factor PUF60	<i>Puf60</i>	-9,6	6,0	58,4	5	-	3	-13,9	14,0	58,4	7	-	4	-12,1	9,0	58,4	7	-	4
Q8C2D2	Putative uncharacterized protein	<i>Ufd11</i>	-8,7	8,0	34,5	6	-	2	-10,7	12,0	34,5	7	-	3	-9,9	12,0	34,5	6	-	3
Q3UJN1	Putative uncharacterized protein	<i>Mcm2</i>	-6,5	2,0	103,0	2	-	2	-20,8	7,0	103,0	12	-	5	-5,7	2,0	103,0	4	-	2
P28658	Ataxin-10	<i>Atxn10</i>	-13,5	9,0	53,6	5	-	3	-9,2	5,0	53,6	6	-	2	-12,0	9,0	53,6	7	-	3
Q99MN9	Propionyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial	<i>Pccb</i>	-8,9	5,0	58,3	2	-	2	-5,3	2,0	58,3	1	-	1	-26,7	20,0	58,3	15	-	7
Q99MR6-1	Isoform A of Serrate RNA effector molecule homolog	<i>Srrt</i>	-5,0	1,0	100,3	2	-	1	-9,3	2,0	100,3	3	-	2	-14,0	5,0	100,3	13	-	4
P97823-1	Isoform 1 of Acyl-protein thioesterase 1	<i>Lyp1a1</i>	-5,0	5,0	24,6	2	-	1	-5,4	10,0	24,6	4	-	2	-16,7	21,0	24,6	12	-	4
Q9DBH5	Vesicular integral-membrane protein VIP36	<i>Lman2</i>	-2,7	3,0	40,3	1	-	1	-3,4	3,0	40,3	2	-	1	-18,0	21,0	40,3	15	-	6
Q62093	Serine/arginine-rich splicing factor 2	<i>Srsf2</i>	-8,6	14,0	25,4	3	-	2	-12,6	14,0	25,4	6	-	2	-4,1	10,0	25,4	9	-	2
O08915	AH receptor-interacting protein	<i>Aip</i>	-3,0	4,0	37,5	3	-	1	-5,7	4,0	37,5	10	-	1	-4,5	4,0	37,5	5	-	1
P61290	Proteasome activator complex subunit 3	<i>Psme3</i>	-5,4	10,0	29,4	2	-	2	-9,9	14,0	29,4	7	-	3	-17,6	20,0	29,4	9	-	4
Q91WK2	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit H	<i>Eif3h</i>	-5,7	3,0	39,7	4	-	1	-7,6	8,0	39,7	10	-	2	-5,3	3,0	39,7	3	-	1
Q61035	Histidyl-tRNA synthetase, cytoplasmic	<i>Hars</i>	-7,5	4,0	57,3	5	-	2	-9,9	4,0	57,3	5	-	2	-15,1	7,0	57,3	7	-	3
Q9JK23	Proteasome assembly chaperone 1	<i>Psmg1</i>	-7,1	7,0	33,0	3	-	2	-8,0	7,0	33,0	7	-	2	-11,1	12,0	33,0	7	-	3
O88342	WD repeat-containing protein 1	<i>Wdr1</i>	-10,4	4,0	66,3	3	-	2	-2,7	1,0	66,3	1	-	1	-24,3	17,0	66,3	13	-	7
Q9R0E1	Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 3	<i>Plod3</i>	-5,9	3,0	84,8	2	-	2	-10,2	4,0	84,8	4	-	3	-19,1	9,0	84,8	11	-	5
O89086	Putative RNA-binding protein 3	<i>Rbm3</i>	-7,6	20,0	16,5	5	-	2	-8,8	20,0	16,5	11	-	2	-2,6	7,0	16,5	1	-	1
P70195	Proteasome subunit beta type-7	<i>Psmb7</i>	-2,6	3,0	29,8	3	-	1	-4,5	7,0	29,8	9	-	2	-2,8	3,0	29,8	4	-	1
Q921G7	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase, mitochondrial	<i>Etfah</i>	-8,5	7,0	67,9	4	-	4	-8,8	5,0	67,9	3	-	3	-15,9	9,0	67,9	9	-	6
P62748	Hippocalcin-like protein 1	<i>Hpcal1</i>	-21,7	25,0	22,2	14	-	4	-6,8	6,0	22,2	1	-	1	-8,3	6,0	22,2	1	-	1
Q9CX34	Suppressor of G2 allele of SKP1 homolog	<i>Sugt1</i>	-22,7	21,0	38,0	13	-	5	-5,5	3,0	38,0	1	-	1	-9,3	7,0	38,0	2	-	2
D3YWT1	MCG11326, isoform CRA_b	<i>Hnmph3</i>	-11,3	9,0	35,1	5	-	2	-10,4	9,0	35,1	3	-	2	-21,0	22,0	35,1	8	-	5
Q9CRA5-1	Isoform 1 of Golgi phosphoprotein 3	<i>Golph3</i>	-4,8	5,0	33,6	3	-	1	-6,1	5,0	33,6	5	-	1	-11,3	9,0	33,6	8	-	2
Q564P4	Adenine phosphoribosyl transferase	<i>Aprt</i>	-8,7	21,0	19,6	4	-	3	-7,3	12,0	19,6	5	-	2	-10,8	21,0	19,6	7	-	3

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q920Q8-1	Isoform 1 of Influenza virus NS1A-binding protein homolog	<i>lvns1abp</i>	-3,1	2,0	71,4	1	-	1	-4,2	2,0	71,4	4	-	1	-14,5	10,0	71,4	11	-	5
Q9QYJ0	DnaJ homolog subfamily A member 2	<i>Dnaja2</i>	-6,3	5,0	45,6	4	-	2	-5,0	6,0	45,6	5	-	2	-8,7	10,0	45,6	7	-	3
P46061	Ran GTPase-activating protein 1	<i>Rangap1</i>	-6,5	5,0	63,5	4	-	3	-6,4	4,0	63,5	2	-	2	-15,7	10,0	63,5	10	-	5
Q62261-1	Isoform 1 of Spectrin beta chain, brain 1	<i>Sptbn1</i>	-5,9	1,0	273,8	2	-	2	-16,7	2,0	273,8	9	-	4	-6,4	0,0	273,8	5	-	1
Q3U1J4	DNA damage-binding protein 1	<i>Ddb1</i>	-14,8	5,0	126,6	3	-	3	-10,7	5,0	126,6	4	-	4	-18,4	6,0	126,6	9	-	4
Q88GD9	Eukaryotic translation initiation factor 4B	<i>Eif4b</i>	-3,3	2,0	68,7	2	-	1	-5,4	5,0	68,7	5	-	2	-13,4	8,0	68,7	9	-	4
Q9JJV2-1	Isoform 1 of Profilin-2	<i>Pfn2</i>	-4,1	9,0	14,9	2	-	1	-4,6	9,0	14,9	7	-	1	-9,9	19,0	14,9	6	-	2
O35857	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM44	<i>Timm44</i>	-13,0	8,0	51,1	5	-	3	-11,1	8,0	51,1	5	-	3	-10,8	8,0	51,1	5	-	3
P52293	Importin subunit alpha-2	<i>Kpna2</i>	-8,7	5,0	57,8	4	-	2	-8,6	7,0	57,8	7	-	3	-14,4	11,0	57,8	4	-	4
Q9D6J6-1	Isoform 1 of NAUH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2, mitochondrial	<i>Ndufv2</i>	-8,6	21,0	27,2	4	-	3	-5,8	16,0	27,2	3	-	2	-11,4	24,0	27,2	8	-	4
Q9ESP1	Stromal cell-derived factor 2-like protein 1	<i>Sdf2l1</i>	-6,2	14,0	23,6	3	-	2	-5,6	9,0	23,6	5	-	1	-9,2	14,0	23,6	7	-	2
Q9JMH6-1	Isoform 1 of Thioredoxin reductase 1, cytoplasmic	<i>Txnrd1</i>	-12,5	6,0	66,8	9	-	3	-4,8	4,0	66,8	3	-	2	-8,6	4,0	66,8	3	-	2
P35278	Ras-related protein Rab-5C	<i>Rab5c</i>	-3,1	5,0	23,3	1	-	1	-9,8	17,0	23,3	7	-	3	-10,4	17,0	23,3	7	-	3
Q9Z0X1	Apoptosis-inducing factor 1, mitochondrial	<i>Aifm1</i>	-5,6	5,0	66,6	2	-	2	-19,1	11,0	66,6	9	-	5	-10,5	6,0	66,6	4	-	3
P26516	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 7	<i>Psmd7</i>	-7,5	10,0	36,4	3	-	3	-7,4	8,0	36,4	4	-	2	-13,3	11,0	36,4	8	-	3
Q80UW8	DNA-directed RNA polymerases I, II, and III subunit RPABC1	<i>Polr2e</i>	-8,0	6,0	24,5	5	-	1	-8,2	6,0	24,5	6	-	1	-12,3	10,0	24,5	4	-	2
Q921M7	Protein FAM49B	<i>Fam49b</i>	-2,6	4,0	36,7	2	-	1	-8,4	8,0	36,7	6	-	2	-11,6	8,0	36,7	7	-	2
Q9JUJ8	SH3 domain binding glutamic acid-rich like protein	<i>Sh3bgr1</i>	-3,3	11,0	12,7	3	-	1	-14,5	44,0	12,7	8	-	4	-3,4	11,0	12,7	3	-	1
P43883	Perilipin-2	<i>Plin2</i>	-25,1	17,0	46,5	7	-	5	-6,6	3,0	46,5	3	-	1	-12,7	10,0	46,5	4	-	3
Q9WUK4	Replication factor C subunit 2	<i>Rfc2</i>	-18,3	15,0	38,6	8	-	4	-8,2	8,0	38,6	4	-	2	-5,6	3,0	38,6	2	-	1
Q91WN1	DnaJ homolog subfamily C member 9	<i>Dnajc9</i>	-6,6	8,0	30,0	4	-	2	-8,8	12,0	30,0	6	-	3	-9,3	13,0	30,0	4	-	3
Q9D358-1	Isoform 1 of Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase	<i>Acp1</i>	-4,6	12,0	18,1	5	-	2	-3,8	16,0	18,1	4	-	2	-10,1	25,0	18,1	5	-	3
Q9CZS1	Aldehyde dehydrogenase X, mitochondrial	<i>Aldh1b1</i>	-24,7	14,0	57,4	11	-	5	-7,2	2,0	57,4	2	-	1	-3,3	2,0	57,4	1	-	1
Q91VM9-1	Isoform 1 of Inorganic pyrophosphatase 2, mitochondrial	<i>Ppa2</i>	-10,9	11,0	38,0	7	-	3	-6,3	7,0	38,0	3	-	2	-9,7	17,0	38,0	4	-	4
P61087	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 K	<i>Ube2k</i>	-10,1	18,0	22,3	7	-	3	-3,7	5,0	22,3	1	-	1	-6,2	16,0	22,3	6	-	3
Q8BPG6	Sulfatase-modifying factor 2	<i>Sumf2</i>	-9,6	8,0	34,6	3	-	2	-15,8	17,0	34,6	7	-	4	-12,5	16,0	34,6	4	-	3
Q91V76	Ester hydrolase C11orf54 homolog		-2,5	5,0	34,9	1	-	1	-3,2	5,0	34,9	3	-	1	-12,7	19,0	34,9	10	-	4
O54734	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	<i>Ddost</i>	-7,2	4,0	48,9	4	-	2	-12,9	7,0	48,9	8	-	3	-5,3	4,0	48,9	2	-	2
O55135	Eukaryotic translation initiation factor 6	<i>Eif6</i>	-9,5	11,0	26,4	3	-	2	-10,0	13,0	26,4	3	-	2	-19,9	32,0	26,4	8	-	5
Q9QZE7	Translin-associated protein X	<i>Tsnax</i>	-4,5	6,0	32,8	3	-	2	-9,7	12,0	32,8	5	-	3	-7,2	6,0	32,8	5	-	2
Q9QYI3	DnaJ homolog subfamily C member 7	<i>Dnajc7</i>	-11,3	7,0	56,3	7	-	3	-6,7	5,0	56,3	4	-	2	-10,8	7,0	56,3	2	-	2
Q9Z2M7	Phosphomannomutase 2	<i>Pmm2</i>	-6,1	9,0	27,6	2	-	2	-14,3	18,0	27,6	8	-	4	-4,6	9,0	27,6	3	-	2
Q8JZQ9	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B	<i>Eif3b</i>	-3,5	2,0	91,2	1	-	1	-13,7	6,0	91,2	7	-	3	-12,0	5,0	91,2	5	-	2
Q3THG9	Alanyl-tRNA editing protein Aarsd1	<i>Aarsd1</i>	-14,8	13,0	44,9	7	-	4	-7,1	8,0	44,9	3	-	2	-8,1	5,0	44,9	3	-	2
Q60597-1	Isoform 1 of 2-oxoglutarate dehydrogenase, mitochondrial	<i>Ogdh</i>	-15,5	7,0	116,2	4	3	4	-11,1	5,0	116,2	5	-	4	-4,1	0,0	116,2	1	-	1
Q9DBL1	Short/branched chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Acadsh</i>	-5,0	3,0	47,8	2	-	1	-4,5	4,0	47,8	3	-	1	-21,3	13,0	47,8	8	-	4
P70303-1	Isoform 1 of CTP synthase 2	<i>Ctps2</i>	-10,6	6,0	65,4	5	-	3	-5,7	4,0	65,4	2	-	2	-11,7	4,0	65,4	4	-	2
Q8BJY1	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 5	<i>Psmd5</i>	-11,7	7,0	55,8	5	-	3	-6,6	6,0	55,8	2	-	2	-17,3	10,0	55,8	6	-	4
Q9D0T1	NHP2-like protein 1	<i>Nhp2l1</i>	-3,0	9,0	14,1	1	-	1	-15,7	27,0	14,1	9	-	3	-7,9	27,0	14,1	3	-	3
P27612	Phospholipase A-2-activating protein	<i>Pla2</i>	-11,4	6,0	87,1	5	-	3	-7,4	2,0	87,1	3	-	1	-8,2	4,0	87,1	4	-	2

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine	Poid	Spectres	Pep	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine	Poid	Spectres	Pep	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine	Poid	Spectres	Pep	Pep Uniq
				Couverte	Moléculaire (KDa)		Spécif Uniq			Couverte	Moléculaire (KDa)		Spécif Uniq			Couverte	Moléculaire (KDa)		Spécif Uniq	
P62774	Myotrophin	<i>Mtpn</i>	-5,1	14,0	12,8	3	-	1	-5,6	14,0	12,8	4	-	1	-7,8	14,0	12,8	5	-	1
Q9CQ45	Neudesin	<i>Nenf</i>	-2,7	6,0	18,8	1	-	1	-4,9	16,0	18,8	6	-	2	-5,2	16,0	18,8	5	-	2
Q92119	Exosome complex component RRP41	<i>Exosc4</i>	-6,6	9,0	26,2	3	-	2	-5,8	4,0	26,2	5	-	1	-9,8	14,0	26,2	4	-	3
Q8BTW3	Exosome complex component MTR3	<i>Exosc6</i>	-5,7	5,0	28,3	6	-	1	-8,9	14,0	28,3	5	-	2	-4,9	5,0	28,3	1	-	1
Q9Z2U0	Proteasome subunit alpha type-7	<i>PsmA7</i>	-4,8	4,0	27,8	1	-	1	-19,4	16,0	27,8	10	-	3	-7,3	6,0	27,8	1	-	1
P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	<i>Mtco2</i>	-5,0	4,0	25,9	4	-	1	-4,9	13,0	25,9	3	-	2	-2,7	4,0	25,9	5	-	1
Q04997	Inhibin alpha chain	<i>Inha</i>	-4,7	5,0	39,4	1	-	1	-8,1	10,0	39,4	10	-	2	-4,2	5,0	39,4	1	-	1
Q9CQF9	Prenylcysteine oxidase	<i>Pcyox1</i>	-11,9	5,0	56,4	3	-	2	-7,7	9,0	56,4	4	-	3	-15,1	5,0	56,4	5	-	2
Q9WU28	Prefoldin subunit 5	<i>Pfdn5</i>	-7,1	9,0	17,3	1	-	1	-13,3	19,0	17,3	10	-	2	-7,8	9,0	17,3	1	-	1
Q8CG72-1	Isoform 1 of Poly(ADP-ribose) glycohydrolase ARH3	<i>Adprh2</i>	-7,5	3,0	39,3	3	-	1	-4,2	6,0	39,3	2	-	1	-20,7	16,0	39,3	6	-	4
Q8QZS1	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial	<i>Hibch</i>	-7,7	6,0	42,9	3	-	2	-8,6	8,0	42,9	3	-	3	-12,8	11,0	42,9	5	-	4
Q8K1M6-1	Isoform 1 of Dynamin-1-like protein	<i>Dnm1l</i>	-21,3	10,0	82,5	7	-	6	-3,5	1,0	82,5	1	-	1	-11,2	4,0	82,5	3	-	3
P09055	Integrin beta-1	<i>Irgb1</i>	-4,9	2,0	88,1	2	-	2	-4,5	2,0	88,1	2	-	2	-9,3	5,0	88,1	7	-	3
Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase, mitochondrial	<i>Acaa2</i>	-6,5	3,0	41,7	5	-	1	-9,4	6,0	41,7	4	-	2	-4,6	3,0	41,7	2	-	1
Q9DB29	Isoamyl acetate-hydrolyzing esterase 1 homolog	<i>lah1</i>	-8,8	6,0	27,9	2	-	1	-3,9	6,0	27,9	1	-	1	-12,5	12,0	27,9	8	-	2
Q8VH51-1	Isoform 1 of RNA-binding protein 39	<i>Rbm39</i>	-21,3	9,0	59,4	7	-	4	-6,4	6,0	59,4	2	-	2	-4,9	3,0	59,4	2	-	1
P16546-1	Isoform 1 of Spectrin alpha chain, brain	<i>Sptan1</i>	-13,1	2,0	284,2	5	-	5	-8,3	1,0	284,2	4	-	3	-5,0	0,0	284,2	2	-	2
Q8C2C6	Trk-fused	<i>Tfg</i>	-7,8	23,0	21,3	3	-	2	-13,6	18,0	37,4	4	-	3	-12,1	23,0	37,4	4	-	4
Q9DAK9	14 kDa phosphohistidine phosphatase	<i>Phpt1</i>	-3,2	9,0	13,9	1	-	1	-4,3	9,0	13,9	2	-	1	-8,9	22,0	13,9	8	-	3
Q35654	DNA polymerase delta subunit 2	<i>Pold2</i>	-13,5	9,0	51,2	3	-	3	-12,8	9,0	51,2	4	-	3	-14,7	6,0	51,2	4	-	2
Q3TWW8	Splicing factor, arginine/serine-rich 6	<i>Srsf6</i>	-6,4	7,0	38,9	3	-	2	-2,6	3,0	38,9	2	-	1	-7,3	7,0	38,9	5	-	3
Q2TPA8	Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2	<i>Hsd12</i>	-16,7	12,0	54,1	5	-	4	-6,9	4,0	54,1	2	-	2	-10,0	4,0	54,1	3	-	2
Q9ER69-1	Isoform 1 of Pre-mRNA-splicing regulator WTAP	<i>Wtap</i>	-8,3	7,0	44,1	2	-	2	-13,5	7,0	44,1	3	-	2	-11,2	7,0	44,1	5	-	2
Q8CIG8	Protein arginine N-methyltransferase 5	<i>Prmt5</i>	-12,9	5,0	72,5	6	-	3	-9,3	3,0	72,5	3	-	2	-3,7	2,0	72,5	1	-	1
Q921H9	Sel1 repeat-containing protein 1	<i>Selrc1</i>	-10,4	9,0	25,5	4	-	2	-9,1	9,0	25,5	3	-	2	-12,0	17,0	25,5	3	-	2
Q9CY64	Biliverdin reductase A	<i>Blvra</i>	-6,9	9,0	33,4	4	-	2	-5,6	4,0	33,4	3	-	1	-6,5	9,0	33,4	3	-	2
O09172	Glutamate--cysteine ligase regulatory subunit	<i>Gclm</i>	-3,5	4,0	30,4	3	-	1	-7,7	4,0	30,4	5	-	1	-6,6	4,0	30,4	2	-	1
Q8VDL4-1	Isoform 1 of ADP-dependent glucokinase	<i>Adpgk</i>	-5,0	5,0	53,8	2	-	2	-5,0	6,0	53,8	4	-	2	-7,9	6,0	53,8	4	-	2
Q61655	ATP-dependent RNA helicase DDX19A	<i>Ddx19a</i>	-4,1	2,0	53,8	2	-	1	-10,3	7,0	53,8	4	-	3	-9,1	7,0	53,8	4	-	3
Q8BTS4	Nuclear pore complex protein Nup54	<i>Nup54</i>	-3,2	2,0	55,6	2	-	1	-8,6	5,0	55,6	2	-	2	-10,6	8,0	55,6	6	-	3
P23591	GDP-L-fucose synthase	<i>Tsta3</i>	-10,5	8,0	35,8	3	-	2	-12,6	8,0	35,8	3	-	2	-12,8	8,0	35,8	4	-	2
Q8R1V4	Transmembrane emp24 domain-containing protein 4	<i>Tmed4</i>	-4,0	4,0	25,9	3	-	1	-3,8	4,0	25,9	2	-	1	-7,8	9,0	25,9	5	-	2
Q9D898	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5-like protein	<i>Arpc5l</i>	-9,9	16,0	16,9	5	-	2	-7,0	7,0	16,9	4	-	1	-5,3	7,0	16,9	1	-	1
P70202	Latexin	<i>Lxn</i>	-3,0	5,0	25,4	2	-	1	-4,4	5,0	25,4	2	-	1	-10,2	13,0	25,4	6	-	2
Q8VBV7	COP9 signalosome complex subunit 8	<i>Cops8</i>	-3,3	6,0	23,2	2	-	1	-6,1	16,0	23,2	2	-	2	-12,2	22,0	23,2	6	-	3
P62082	40S ribosomal protein S7	<i>Rps7</i>	-2,6	6,0	22,0	2	-	1	-6,2	10,0	22,0	4	-	2	-5,4	6,0	22,0	4	-	1
Q9ERE7	LDLR chaperone MESD	<i>Mesdc2</i>	-2,9	4,0	25,1	1	-	1	-15,6	16,0	25,1	6	-	4	-4,6	9,0	25,1	3	-	2
Q91WG2-2	Isoform 3 of Rab GTPase-binding effector protein 2	<i>Rabep2</i>	-6,8	5,0	54,2	5	-	2	-5,9	3,0	54,2	2	-	1	-5,0	3,0	54,2	2	-	1
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	<i>Lasp1</i>	-9,9	15,0	29,9	5	-	3	-5,8	10,0	29,9	3	-	2	-3,5	5,0	29,9	1	-	1
Q5SUF2-1	Isoform 1 of Luc7-like protein 3	<i>Luc7l3</i>	-10,6	9,0	51,3	6	-	3	-6,5	4,0	51,3	1	-	1	-4,8	5,0	51,3	2	-	2

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
Q35XD3	HD domain-containing protein 2	<i>Hddc2</i>	-4,4	6,0	22,7	2	-	1	-6,3	15,0	22,7	5	-	2	-3,6	6,0	22,7	2	-	1
P49717	DNA replication licensing factor MCM4	<i>Mcm4</i>	-5,3	1,0	96,6	1	-	1	-7,8	3,0	96,6	7	-	2	-4,0	1,0	96,6	1	-	1
P70677	Caspase-3	<i>Casp3</i>	-4,4	4,0	31,4	1	-	1	-6,4	8,0	31,4	3	-	2	-8,7	20,0	31,4	5	-	4
Q9WVA2	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim8 A	<i>Timm8a1</i>	-6,2	22,0	11,0	2	-	2	-3,0	11,0	11,0	3	-	1	-8,7	22,0	11,0	4	-	2
P42669	Transcriptional activator protein Pur-alpha	<i>Pura</i>	-9,2	8,0	34,8	1	-	1	-12,7	16,0	34,8	6	-	3	-8,4	8,0	34,8	2	-	1
Q9EQ80	NIF3-like protein 1	<i>Nif3l1</i>	-5,7	3,0	41,6	2	-	1	-5,1	3,0	41,6	3	-	1	-7,7	3,0	41,6	4	-	1
Q80V26	Inositol monophosphatase 3	<i>Impad1</i>	-4,4	3,0	38,5	3	-	1	-4,2	3,0	38,5	4	-	1	-2,6	3,0	38,5	2	-	1
Q9D0I9	Arginyl-tRNA synthetase, cytoplasmic	<i>Rars</i>	-5,0	2,0	75,5	1	-	1	-13,5	7,0	75,5	7	-	4	-3,6	2,0	75,5	1	-	1
Q77TNC4-1	Isoform 1 of Putative RNA-binding protein Luc7-like 2	<i>Luc7l2</i>	-7,8	3,0	46,5	2	-	1	-6,4	3,0	46,5	3	-	1	-6,9	3,0	46,5	3	-	1
Q61550	Double-strand-break repair protein rad21 homolog	<i>Rad21</i>	-8,4	4,0	71,9	3	-	2	-4,9	2,0	71,9	1	-	1	-4,9	2,0	71,9	4	-	1
Q66J56	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit J	<i>Eif3j</i>	-7,2	16,0	29,4	3	-	3	-6,3	8,0	29,4	3	-	2	-5,2	8,0	29,4	2	-	2
P62077	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim8 B	<i>Timm8b</i>	-4,9	15,0	9,2	1	-	1	-5,0	15,0	9,2	3	-	1	-5,7	28,0	9,2	4	-	2
Q88H69	Selenide, water dikinase 1	<i>Sephs1</i>	-4,0	3,0	42,8	3	-	1	-3,0	3,0	42,8	2	-	1	-6,8	6,0	42,8	3	-	2
Q9ERF3	WD repeat-containing protein 61	<i>Wdr61</i>	-3,1	2,0	33,7	2	-	1	-3,4	2,0	33,7	2	-	1	-10,7	12,0	33,7	4	-	3
P60229	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit E	<i>Eif3e</i>	-13,2	12,0	52,1	4	-	4	-7,7	5,0	52,1	2	-	2	-4,4	6,0	52,1	2	-	2
Q77TNG5-1	Isoform 1 of Echinoderm microtubule-associated protein-like 2	<i>Eml2</i>	-5,2	2,0	70,6	2	-	1	-5,2	2,0	70,6	1	-	1	-7,2	5,0	70,6	5	-	2
Q11136	Xaa-Pro dipeptidase	<i>Peptd</i>	-3,7	2,0	54,9	1	-	1	-6,2	5,0	54,9	3	-	2	-8,6	5,0	54,9	4	-	2
Q6PDL0	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 2	<i>Dync1li2</i>	-8,0	5,0	54,1	3	-	2	-2,7	3,0	54,1	2	-	1	-5,6	5,0	54,1	3	-	2
Q8BH58	TIP41-like protein	<i>Tipr1</i>	-5,2	5,0	31,2	2	-	1	-5,3	5,0	31,2	2	-	1	-5,4	5,0	31,2	3	-	1
Q60739-1	Isoform 1 of BAG family molecular chaperone regulator 1	<i>Bag1</i>	-4,4	3,0	39,6	2	-	1	-4,3	3,0	39,6	2	-	1	-4,4	3,0	39,6	3	-	1
O35127	Protein C10	<i>Groc10</i>	-9,2	12,0	13,1	1	-	1	-18,5	24,0	13,1	3	-	2	-16,3	38,0	13,1	3	-	3
Q8BJU0-1	Isoform 1 of Small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein aloha	<i>Sgta</i>	-4,3	3,0	34,2	1	-	1	-5,0	3,0	34,2	3	-	1	-6,0	7,0	34,2	3	-	2
Q9D3D9	ATP synthase subunit delta, mitochondrial	<i>Atp5d</i>	-3,0	8,0	17,5	1	-	1	-7,7	8,0	17,5	4	-	1	-8,1	8,0	17,5	2	-	1
B1AUN2	Eukaryotic translation initiation factor 2B, subunit 3	<i>Eif2b3</i>	-7,4	3,0	50,4	1	-	1	-15,8	9,0	50,4	4	-	3	-8,2	3,0	50,4	2	-	1
Q8R146-1	Isoform 1 of Acylamino-acid-releasing enzyme	<i>Apeh</i>	-3,3	1,0	81,4	1	-	1	-6,7	2,0	81,4	1	-	1	-8,8	3,0	81,4	5	-	2
Q9WV85	Nucleoside diphosphate kinase 3	<i>Nme3</i>	-5,4	10,0	19,0	1	-	1	-9,4	17,0	19,0	2	-	2	-13,2	22,0	19,0	4	-	3
D3Z3F4	Uncharacterized protein	<i>Mtx1</i>	-7,4	7,0	39,5	2	-	2	-3,2	3,0	39,5	1	-	1	-10,4	7,0	39,5	3	-	2
Q9DC61	Mitochondrial-processing peptidase subunit alpha	<i>Pmpca</i>	-3,9	2,0	58,1	1	-	1	-2,8	1,0	58,1	1	-	1	-8,4	8,0	58,1	4	-	3
Q60872	Eukaryotic translation initiation factor 1A	<i>Eif1a</i>	-3,8	8,0	16,4	1	-	1	-6,3	19,0	16,4	2	-	2	-3,3	8,0	16,4	3	-	1
Q9D8U8	Sorting nexin-5	<i>Snx5</i>	-8,1	3,0	46,7	2	-	1	-10,5	6,0	46,7	3	-	2	-8,0	3,0	46,7	1	-	1
Q8BP40-1	Isoform 1 of Lysophosphatidic acid phosphatase type 6	<i>Acp6</i>	-3,2	2,0	47,5	1	-	1	-4,6	2,0	47,5	2	-	1	-12,1	9,0	47,5	3	-	3
Q9D0B0	Serine/arginine-rich splicing factor 9	<i>Srsf9</i>	-3,2	2,0	47,5	1	-	1	-4,6	2,0	47,5	2	-	1	-12,1	9,0	47,5	3	-	3
P70372	ELAV-like protein 1	<i>Elavl1</i>	-4,0	3,0	36,0	2	-	1	-5,2	3,0	36,0	3	-	1	-3,8	3,0	36,0	1	-	1
Q8BGE6	Cysteine protease ATG4B	<i>Atg4b</i>	-4,5	3,0	44,3	1	-	1	-5,7	3,0	44,3	3	-	1	-6,0	3,0	44,3	1	-	1
Q6PAM1-1	Isoform 1 of Alpha-taxilin	<i>Txlna</i>	-3,7	2,0	62,2	1	-	1	-4,0	4,0	62,2	3	-	1	-3,5	2,0	62,2	1	-	1
Q9DBP5	UMP-CMP kinase	<i>Cmpk1</i>	-5,0	10,0	22,1	2	-	1	-4,7	10,0	22,1	1	-	1	-5,1	15,0	22,1	2	-	2
Q9CPW4	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5	<i>Arpc5</i>	-3,3	8,0	16,2	1	-	1	-3,3	8,0	16,2	1	-	1	-3,3	8,0	16,2	3	-	1
Q6P9R2	Serine/threonine-protein kinase OSR1	<i>Oxsr1</i>	-4,6	4,0	58,1	2	-	2	-3,7	2,0	58,1	2	-	1	-3,1	2,0	58,1	1	-	1
Q8VED9	Galectin-related protein A	<i>Grpa</i>	-3,5	6,0	18,9	1	-	1	-3,9	6,0	18,9	1	-	1	-5,0	6,0	18,9	2	-	1
Q9JI46	Diphosphoinositol polyphosphate phosphohydrolase 1	<i>Nudt3</i>	-3,0	5,0	18,9	1	-	1	-3,2	8,0	18,9	1	-	1	-4,6	14,0	18,9	2	-	2

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq
Q99LT0	Protein dpy-30 homolog	<i>Dpy30</i>	-3,4	11,0	11,1	1	-	1	-3,5	11,0	11,1	1	-	1	-4,3	11,0	11,1	2	-	1
Q9D0D5	General transcription factor IIE subunit 1	<i>Gtf2e1</i>	-3,1	3,0	49,5	1	-	1	-2,9	3,0	49,5	2	-	1	-3,3	3,0	49,5	1	-	1
P63073	Eukaryotic translation initiation factor 4E	<i>Eif4e</i>	-7,3	6,0	25,0	1	-	1	-5,8	6,0	25,0	1	-	1	-8,0	6,0	25,0	2	-	1
Q9D287	Pre-mRNA-splicing factor SPF27	<i>Bcas2</i>	-3,1	5,0	26,0	1	-	1	-3,1	5,0	26,0	1	-	1	-5,5	5,0	26,0	2	-	1
Q9CQR6	Serine/threonine-protein phosphatase 6 catalytic subunit	<i>Ppp6c</i>	-3,1	3,0	35,1	1	-	1	-5,0	4,0	35,1	1	-	1	-4,2	8,0	35,1	2	-	2
P60898	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB9	<i>Polr2i</i>	-4,6	11,0	14,4	1	-	1	-3,0	11,0	14,4	1	-	1	-3,3	11,0	14,4	1	-	1
Q8R1Q8	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 1	<i>Dync1li1</i>	-2,7	2,0	56,5	1	-	1	-3,3	3,0	56,5	1	-	1	-4,3	3,0	56,5	1	-	1
Q8R4N0	Citrate lyase subunit beta-like protein, mitochondrial	<i>Clybl</i>	-6,2	3,0	37,4	1	-	1	-9,3	2,0	99,7	3	-	2	-9,6	7,0	37,4	4	-	2
Q9CX22	Putative uncharacterized protein	<i>Cfl1</i>	-12,2	28,0	18,4	12	1	4	-11,5	22,0	18,4	22	2	3	-11,9	22,0	18,4	13	2	3
Q3TW93	Putative uncharacterized protein	<i>Hspa9</i>	-114,9	39,0	73,3	176	20	21	-120,2	43,0	73,3	265	23	24	-125,5	43,0	73,3	243	1	23
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	<i>Gstm5</i>	-26,2	32,0	26,5	20	7	8							-13,0	26,0	25,6	12	1	5
Q80W21	Glutathione S-transferase Mu 7	<i>Gstm7</i>	-9,2	17,0	25,6	10	1	3							-7,2	14,0	26,5	8	2	3
Q9CQC9	GTP-binding protein SAR1b	<i>Sar1b</i>	-7,1	11,0	22,3	3	-	2							-11,3	17,0	22,3	13	2	3
A8DUK2	Beta-globin	<i>Hbb-b1</i>	-12,5	21,0	16,1	9	2	3							-2,7	6,0	16,1	2	-	1
Q9WU78-1	Isoform 1 of Programmed cell death 6-interacting protein	<i>Pdcd6ip</i>	-23,4	10,0	95,8	10	-	7							-17,1	7,0	95,8	6	-	5
Q07076	Annexin A7	<i>Anxa7</i>	-14,8	8,0	49,8	10	-	3							-13,0	8,0	49,8	5	-	3
Q8CHP8	Phosphoglycolate phosphatase	<i>Pgp</i>	-5,2	8,0	34,4	3	-	2							-12,1	19,0	34,4	9	-	5
P51859	Hepatoma-derived growth factor	<i>Hdgf</i>	-3,0	4,0	26,2	4	-	1							-7,1	19,0	26,2	7	-	3
Q8K3J1	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 8, mitochondrial	<i>Ndufs8</i>	-6,3	14,0	23,9	4	-	3							-10,5	23,0	23,9	8	-	4
Q9D0M5	Dynein light chain 2, cytoplasmic	<i>Dynll2</i>	-8,5	36,0	10,3	6	1	2							-5,8	24,0	10,3	2	-	1
P63168	Dynein light chain 1, cytoplasmic	<i>Dynll1</i>	-8,1	36,0	10,3	4	1	2							-4,7	24,0	10,3	1	-	1
P26369	Splicing factor U2AF 65 kDa subunit	<i>U2af2</i>	-11,7	9,0	53,4	8	-	3							-4,0	3,0	53,4	3	-	1
P61226	Ras-related protein Rap-2b	<i>Rap2b</i>	-8,0	10,0	20,4	6	-	2							-7,1	12,0	20,4	4	-	2
Q5BL10	Kinesin family member 5B	<i>Kif5b</i>	-17,8	7,0	109,4	7	-	6							-5,4	2,0	109,4	2	-	2
P60766-2	Isoform 2 of Cell division control protein 42 homolog	<i>Cdc42</i>	-5,2	10,0	21,2	3	-	2							-8,1	19,0	21,2	5	-	3
Q8C0L6-1	Isoform 1 of Peroxisomal N(1)-acetyl-spermine/spermidine oxidase	<i>Paax</i>	-9,4	3,0	55,3	8	-	1							-5,5	3,0	55,3	1	-	1
Q91WU5	Arsenite methyltransferase	<i>As3mt</i>	-3,3	3,0	41,7	1	-	1							-15,9	18,0	41,7	7	-	5
P13020-1	Isoform 1 of Gelsolin	<i>Gsn</i>	-8,5	3,0	85,8	2	-	2							-13,1	5,0	85,8	6	-	3
Q9QXN5	Inositol oxygenase	<i>Miox</i>	-11,3	12,0	33,1	6	-	3							-3,1	4,0	33,1	2	-	1
P97760	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB3	<i>Polr2c</i>	-6,1	8,0	31,2	3	-	2							-2,8	3,0	31,2	1	-	1
P36993-1	Isoform Beta-1 of Protein phosphatase 1B	<i>Ppm1b</i>	-4,4	3,0	42,7	2	-	1							-5,1	4,0	42,7	5	-	2
Q61703	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2	<i>Itih2</i>	-7,1	1,0	105,7	5	-	1							-6,8	1,0	105,7	2	-	1
P08752	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-2	<i>Gnai2</i>	-2,5	3,0	40,4	1	-	1							-5,7	7,0	40,4	4	1	2
Q9CQC6	Basic leucine zipper and W2 domain-containing protein 1	<i>Bzw1</i>	-4,7	2,0	47,9	4	-	1							-3,3	2,0	47,9	2	-	1
P51863	V-type proton ATPase subunit d 1	<i>Atp6v0d1</i>	-5,2	6,0	40,2	3	-	2							-6,2	6,0	40,2	3	-	2
Q62426	Cystatin-B	<i>Cstb</i>	-8,8	35,0	11,0	3	-	2							-2,8	11,0	11,0	1	-	1
P21279	Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha	<i>Gnaq</i>	-2,7	4,0	42,0	1	-	1							-8,5	10,0	42,0	5	-	3
Q9JI75	Ribosylidihydroxynicotinamide dehydrogenase [quinone]	<i>Nqo2</i>	-11,9	22,0	26,2	4	-	3							-2,9	4,0	26,2	2	-	1
Q9D7X8	Gamma-glutamylcyclotransferase	<i>Ggct</i>	-7,1	12,0	21,1	4	-	2							-2,6	6,0	21,1	1	-	1
Q921F4-1	Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L-like	<i>Hnrpl</i>	-5,9	4,0	64,0	2	-	2							-4,4	2,0	64,0	3	-	1

			IS						RMS						FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	% Protéine		Poid Moléculaire (kDa)	Spectres	Pep Specif		log(E value)	% Protéine		Poid Moléculaire (kDa)	Spectres	Pep Specif		log(E value)	% Protéine		Poid Moléculaire (kDa)	Spectres	Pep Specif	
			Couverte				Uniq	Pep Uniq		Couverte				Uniq	Pep Uniq		Couverte				Uniq	Pep Uniq
Q9CSU0-1	Isoform 1 of Regulation of nuclear pre-mRNA domain-containing protein 1B	<i>Rprd1b</i>	-4,4	4,0	36,8	1	-	1								-7,1	13,0	36,8	3	-	3	
Q9R0Q3	Transmembrane emp24 domain-containing protein 2	<i>Tmed2</i>	-2,7	5,0	22,6	1	-	1								-4,1	5,0	22,6	4	-	1	
Q8C878-1	Isoform 1 of NEDD8-activating enzyme E1 catalytic subunit	<i>Uba3</i>	-5,3	3,0	51,6	2	-	1								-8,7	3,0	51,6	3	-	1	
Q9D7S9	Charged multivesicular body protein 5	<i>Chmp5</i>	-4,8	9,0	24,5	1	-	1								-5,2	17,0	24,5	3	-	2	
O35326	Serine/arginine-rich splicing factor 5	<i>Srsf5</i>	-2,7	5,0	30,8	1	-	1								-7,9	10,0	30,8	4	-	2	
Q9D142	Uridine diphosphate glucose pyrophosphatase	<i>Nudt14</i>	-5,1	6,0	24,3	1	-	1								-9,5	12,0	24,3	3	-	2	
O54941	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator chromatin subfamily E member 1	<i>Smarca1</i>	-4,4	4,0	46,5	2	-	2								-3,3	3,0	46,5	2	-	1	
Q6PFR5	Transformer-2 protein homolog alpha	<i>Tra2a</i>	-2,9	4,0	32,2	2	-	1								-4,5	4,0	32,2	2	-	1	
Q9JIX8-1	Isoform 1 of Apoptotic chromatin condensation inducer in the nucleus	<i>Acin1</i>	-4,3	0,0	150,5	2	-	1								-3,1	0,0	150,5	1	-	1	
Q99NB8	Ubiquilin-4	<i>Ubiqln4</i>	-3,5	2,0	63,4	1	-	1								-3,2	2,0	63,4	1	-	1	
P59235	Nucleoporin Nup43	<i>Nup43</i>	-4,2	3,0	41,9	1	-	1								-5,6	3,0	41,9	2	-	1	
P61963	DDB1- and CUL4-associated factor 7	<i>Dcaf7</i>	-3,9	4,0	38,8	1	-	1								-9,0	8,0	38,8	2	-	2	
Q9CWS0	N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1	<i>Ddah1</i>	-3,5	4,0	31,3	1	-	1								-6,3	8,0	31,3	2	-	2	
Q8BFQ8	Parkinson disease 7 domain-containing protein 1	<i>Pddc1</i>	-4,3	5,0	23,2	1	-	1								-3,2	5,0	23,2	1	-	1	
Q6NVF9	Cleavage and polyadenylation specificity factor subunit 6	<i>Cpsf6</i>	-3,5	1,0	59,0	1	-	1								-6,6	2,0	59,0	1	-	1	
O55060	Thiopurine S-methyltransferase	<i>Tpmt</i>	-3,8	8,0	16,4	1	-	1								-4,1	3,0	42,0	2	-	1	
P62737	Actin, aortic smooth muscle	<i>Acta2</i>							-85,2	51,0	41,9	533	2	19		-81,0	50,0	41,9	524	1	19	
P63268	Actin, gamma-enteric smooth muscle	<i>Actg2</i>							-73,6	48,0	41,8	522	1	17		-80,8	46,0	41,8	522	1	18	
P70333	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2	<i>Hnrnp2</i>							-44,4	18,0	49,2	116	1	7		-52,1	24,0	49,2	140	2	8	
Q9D154	Leukocyte elastase inhibitor A	<i>Serpinb1a</i>							-43,5	34,0	42,5	41	9	10		-50,9	36,0	42,5	63	-	11	
Q9Z204-3	Isoform 3 of Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	<i>Hnrnpc</i>							-38,3	34,0	32,2	114	1	9		-40,4	34,0	32,2	117	1	9	
P58774-2	Isoform 2 of Tropomyosin beta chain	<i>Tpm2</i>							-20,5	22,0	32,9	25	3	8		-14,6	13,0	32,9	16	1	5	
P80315	T-complex protein 1 subunit delta	<i>Cct4</i>							-33,5	19,0	57,9	22	-	7		-24,5	12,0	57,9	16	4	5	
Q3UXL1	RIKEN cDNA 4921521F21, isoform CRA_b	<i>Akr1cl</i>							-28,5	39,0	36,8	48	8	9		-17,3	21,0	36,8	27	4	5	
P22752	Histone H2A type 1	<i>Hist1h2ab</i>							-12,9	28,0	14,1	68	-	3		-9,3	22,0	14,1	65	-	2	
P14211	Calreticulin	<i>Calr</i>							-64,1	39,0	47,9	104	-	18		-13,4	13,0	47,9	13	-	4	
P51656	Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	<i>Hsd17b1</i>							-17,2	17,0	36,7	21	-	5		-44,5	28,0	36,7	76	-	8	
Q91V41	Ras-related protein Rab-14	<i>Rab14</i>							-7,3	10,0	23,8	9	1	2		-23,0	39,0	23,8	21	6	7	
P35279-1	Isoform 1 of Ras-related protein Rab-6A	<i>Rab6a</i>							-4,1	10,0	23,5	5	1	2		-15,2	27,0	23,5	22	4	5	
P24549	Retinal dehydrogenase 1	<i>Aldh1a1</i>							-39,6	22,0	54,3	48	-	8		-49,6	24,0	54,3	46	-	9	
Q9CZK9	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	<i>Ppia</i>							-31,1	49,0	18,2	42	2	6		-24,4	41,0	18,2	16	1	5	
Q7TPR4	Alpha-actinin-1	<i>Actn1</i>							-29,5	13,0	102,9	35	4	9		-10,9	6,0	102,9	8	3	4	
P28656	Nucleosome assembly protein 1-like 1	<i>Nap1l1</i>							-18,7	16,0	45,2	20	-	4		-8,9	6,0	45,2	7	1	2	
P61750	ADP-ribosylation factor 4	<i>Arf4</i>							-8,0	22,0	20,3	8	2	3		-17,8	39,0	20,3	29	3	5	
P68040	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1	<i>Gnb2l1</i>							-50,9	42,0	35,0	50	-	11		-28,3	16,0	35,0	23	-	5	
Q8JZK9	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, cytoplasmic	<i>Hmgcs1</i>							-5,5	4,0	57,4	2	1	2		-8,4	9,0	57,4	5	3	4	
P45591	Cofilin-2	<i>Cfl2</i>							-9,2	13,0	18,6	16	2	2		-8,1	13,0	18,6	5	2	2	
Q91YQ5	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1	<i>Rpn1</i>							-24,3	12,0	68,4	52	-	6		-10,1	7,0	68,4	8	-	3	
O35226-2	Isoform Rpn10B of 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4	<i>Psmc4</i>							-18,9	26,0	40,9	21	1	6		-20,8	22,0	40,9	17	-	5	
Q8BMK4	Cytoskeleton-associated protein 4	<i>Ckap4</i>							-34,4	21,0	63,6	29	-	9		-32,4	19,0	63,6	24	-	8	

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
P14824	Annexin A6	Anxa6							-34,3	23,0	75,7	21	-	12	-37,3	24,0	75,7	28	-	11
P18242	Cathepsin D	Ctsd							-10,7	12,0	44,8	15	-	4	-31,8	25,0	44,8	35	-	8
E9QM54	Uncharacterized protein	Plod2							-20,5	11,0	84,3	19	-	6	-35,1	13,0	84,3	30	-	8
A2BFA6	Alpha-N-acetylglucosaminidase (Sanfilippo disease IIIB)	Naglu							-6,6	3,0	82,5	6	-	2	-44,8	23,0	82,5	38	-	12
Q99PL5-1	Isoform 3 of Ribosome-binding protein 1	Rrbp1							-31,9	6,0	172,6	18	-	7	-41,0	9,0	172,6	25	-	9
Q8R180	ERO1-like protein alpha	Ero1l							-8,2	7,0	54,0	6	-	3	-33,7	19,0	54,0	35	-	8
P62196	26S protease regulatory subunit 8	Psmc5							-8,2	9,0	45,5	6	2	3	-11,0	10,0	45,5	6	2	3
Q8BH97	Reticulocalbin-3	Rcn3							-23,7	14,0	37,9	14	-	5	-31,3	19,0	37,9	27	-	6
Q9D0E1-1	Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M	Hnrmpm							-28,8	14,0	77,5	20	3	8	-23,4	13,0	77,5	14	2	7
Q9JF5	Diphosphomevalonate decarboxylase	Mvd							-15,0	7,0	44,0	15	-	2	-22,9	15,0	44,0	23	-	4
Q3V1T4-1	Isoform 1 of Prolyl 3-hydroxylase 1	Lepre1							-26,8	13,0	83,5	12	-	7	-41,3	15,0	83,5	25	-	9
P51660	Peroxisomal multifunctional enzyme type 2	Hsd17b4							-35,4	13,0	79,3	26	-	7	-20,5	8,0	79,3	10	-	5
Q3TQP6	Malic enzyme	Me1							-15,8	9,0	61,3	17	-	3	-15,2	10,0	63,9	17	-	4
Q8BGQ7	Alanyl-tRNA synthetase, cytoplasmic	Aars							-25,6	10,0	106,7	17	-	7	-30,6	10,0	106,7	16	-	7
P62806	Histone H4	Hist1h4a							-14,8	40,0	11,3	26	-	4	-5,0	21,0	11,3	3	-	2
P80313	T-complex protein 1 subunit eta	Cct7							-33,9	21,0	59,5	18	-	9	-18,6	16,0	59,5	13	-	7
A2AFQ2	Hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 10	Hsd17b10							-22,1	33,0	28,3	13	-	5	-29,9	42,0	28,3	17	-	7
Q60716-1	Isoform IIb of Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-2	P4ha2							-2,7	2,0	60,9	1	-	1	-35,5	19,0	60,9	28	-	8
P49935	Pro-cathepsin H	Ctsh							-3,6	3,0	37,1	4	-	1	-25,9	20,0	37,1	24	-	5
Q9QXX4	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar2	Slc25a13							-23,6	12,0	74,3	18	-	7	-17,3	8,0	74,3	10	-	5
P51150	Ras-related protein Rab-7a	Rab7a							-8,0	12,0	23,4	4	-	2	-19,0	27,0	23,4	24	-	4
P26443	Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial	Glud1							-30,2	17,0	61,2	20	-	8	-18,6	13,0	61,2	8	-	6
P07356	Annexin A2	Anxa2							-18,9	22,0	38,6	18	-	6	-15,2	12,0	38,6	9	-	4
P97311	DNA replication licensing factor MCM6	Mcm6							-25,7	9,0	92,7	19	-	5	-14,4	8,0	92,7	8	-	4
Q9CPP0	Nucleoplasmin-3	Npm3							-11,6	17,0	18,9	13	-	2	-9,7	9,0	18,9	14	-	1
O54984	ATPase Asna1	Asna1							-3,3	5,0	38,7	1	-	1	-29,9	34,0	38,7	24	-	8
P23492	Purine nucleoside phosphorylase	Pnp							-31,6	31,0	32,2	10	-	7	-32,2	36,0	32,2	16	-	7
Q8QZV3	Dci protein	Dci							-20,8	20,0	32,1	15	-	4	-16,3	20,0	32,1	11	-	4
Q8CIF4	Biotinidase	Btd							-12,7	7,0	58,0	9	-	3	-25,7	10,0	58,0	16	-	4
P16045	Galectin-1	Lgals1							-14,5	25,0	14,8	9	-	2	-27,1	44,0	14,8	16	-	4
Q3UWT6	Proteasome subunit alpha type	Psm2							-22,4	28,0	27,4	23	-	5	-3,7	5,0	27,4	2	-	1
P22935	Cellular retinoic acid-binding protein 2	Crabp2							-15,1	33,0	15,7	11	-	5	-25,1	41,0	15,7	13	-	6
Q9CYD3	Cartilage-associated protein	Crtap							-13,8	15,0	46,0	12	-	5	-19,3	17,0	46,0	10	-	5
D3YZZ5	Uncharacterized protein	Tmed7							-9,1	10,0	25,1	6	-	2	-17,2	20,0	25,1	17	-	4
Q3TVK3	Putative uncharacterized protein	Dnpep							-21,3	16,0	52,3	19	-	6	-6,7	5,0	52,3	4	-	2
Q99LC5	Electron transfer flavoprotein subunit alpha, mitochondrial	Etfa							-20,9	16,0	34,9	16	-	4	-17,3	17,0	34,9	6	-	4
Q99K51	Plastin-3	Pls3							-8,6	4,0	70,6	4	-	2	-11,1	4,0	70,6	2	-	2
P29391	Ferritin light chain 1	Ftl1							-2,6	7,0	20,7	1	-	1	-19,7	35,0	20,7	21	-	4
O35887	Calumenin	Calu							-12,2	15,0	37,0	18	-	3	-4,8	8,0	37,0	3	-	2
P46935	E3 ubiquitin-protein ligase NEDD4	Nedd4							-12,9	8,0	102,5	16	-	5	-7,8	4,0	102,5	5	-	3

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q3TMF5	Dihydroliipoamide branched chain transacylase E2	<i>Dbt</i>							-13,2	9,0	53,1	7	-	4	-21,3	15,0	53,1	12	-	6
Q9ET22	Dipeptidyl peptidase 2	<i>Dpp7</i>							-3,9	1,0	56,1	2	-	1	-14,7	9,0	56,1	18	-	4
Q9EQU5-1	Isoform 1 of Protein SET	<i>Set</i>							-6,8	8,0	33,3	9	-	2	-8,6	12,0	33,3	10	-	3
O55234	Proteasome subunit beta type-5	<i>Psmb5</i>							-20,9	27,0	28,4	16	-	7	-5,7	9,0	28,4	3	-	2
Q8CGC7	Bifunctional aminoacyl-tRNA synthetase	<i>Eprs</i>							-30,5	7,0	169,8	16	-	7	-10,7	1,0	169,8	3	-	2
Q3UZ58	Putative uncharacterized protein	<i>Fdxr</i>							-25,5	16,0	57,2	12	-	7	-10,6	7,0	57,2	7	-	3
O35129	Prohibitin-2	<i>Phb2</i>							-17,5	22,0	33,2	17	-	5	-5,5	10,0	33,2	2	-	2
P05202	Aspartate aminotransferase, mitochondrial	<i>Got2</i>							-16,1	13,0	47,3	13	-	4	-11,0	10,0	47,3	6	-	3
Q8CI94	Glycogen phosphorylase, brain form	<i>Pygb</i>							-15,8	5,0	96,6	17	-	4	-2,7	1,0	96,6	1	-	1
P58044	Isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase 1	<i>Idi1</i>							-6,7	10,0	26,2	7	-	2	-11,5	15,0	26,2	11	-	3
Q9WV54	Acid ceramidase	<i>Asah1</i>							-2,7	4,0	44,6	2	-	1	-19,6	20,0	44,6	16	-	6
Q99M71-1	Isoform 1 of Mammalian ependymin-related protein 1	<i>Epdr1</i>							-6,7	9,0	25,4	3	-	2	-21,4	24,0	25,4	14	-	5
Q8C1B7-1	Isoform 1 of Septin-11	<i>Sept11</i>							-17,5	12,0	49,6	9	-	5	-14,7	13,0	49,6	7	-	5
Q99K10	Aconitate hydratase, mitochondrial	<i>Aco2</i>							-20,7	7,0	85,3	8	-	4	-15,8	5,0	85,3	9	-	3
Q8BG05-2	Isoform 2 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3	<i>Hnrnpa3</i>							-27,6	27,0	37,0	12	-	7	-15,4	9,0	37,0	5	-	2
P62311	U6 snRNA-associated Sm-like protein LSm3	<i>Lsm3</i>							-5,5	32,0	11,8	10	-	2	-6,7	32,0	11,8	6	-	2
Q3U8W9	Putative uncharacterized protein	<i>Hnrnpr</i>							-10,0	7,0	70,7	6	3	4	-10,6	7,0	70,7	6	3	4
Q7TMK9-1	Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q	<i>Syncrip</i>							-10,0	7,0	70,7	6	3	4	-10,6	7,0	70,7	6	3	4
P26645	Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate	<i>Marcks</i>							-4,1	6,0	29,6	4	-	1	-11,4	10,0	29,6	12	-	2
Q9QYG0-1	Isoform 1 of Protein NDRG2	<i>Ndrp2</i>							-3,9	4,0	40,7	1	-	1	-17,6	13,0	40,7	15	-	3
P54071	Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial	<i>Idh2</i>							-21,4	20,0	50,8	15	-	7	-3,9	2,0	50,8	1	-	1
Q3UGY5	Putative uncharacterized protein	<i>Fn1</i>							-24,0	4,0	262,5	14	-	9	-2,6	0,0	262,5	2	-	1
P47955	60S acidic ribosomal protein P1	<i>Rplp1</i>							-6,4	13,0	11,4	10	-	1	-5,5	13,0	11,4	6	-	1
Q80X87	Glia maturation factor, beta	<i>Gmfb</i>							-7,3	11,0	16,7	2	-	1	-7,9	11,0	16,7	13	-	1
Q9EST5-1	Isoform 1 of Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B	<i>Anp32b</i>							-7,6	11,0	31,0	9	-	2	-7,8	15,0	31,0	6	-	3
Q9QZ82	Cholesterol side-chain cleavage enzyme, mitochondrial	<i>Cyp11a1</i>							-3,9	2,0	60,2	1	-	1	-28,2	19,0	60,2	13	-	8
Q9DB20	ATP synthase subunit O, mitochondrial	<i>Atp5o</i>							-17,9	45,0	23,3	10	-	7	-7,8	16,0	23,3	4	-	3
P26350	Prothymosin alpha	<i>Ptma</i>							-8,4	12,0	12,2	10	-	1	-7,9	12,0	12,2	3	-	1
Q9R0P5	Dextrin	<i>Dstn</i>							-7,6	13,0	18,4	7	-	2	-8,6	13,0	18,4	4	-	2
Q91YR1	Twinfilin-1	<i>Twf1</i>							-15,6	15,0	40,0	4	-	4	-24,5	16,0	40,0	9	-	6
P14873	Microtubule-associated protein 1B	<i>Map1b</i>							-17,1	3,0	270,0	8	-	6	-11,8	2,0	270,0	5	-	4
Q9CYA0	Cysteine-rich with EGF-like domain protein 2	<i>Crel2</i>							-5,6	4,0	38,1	3	-	1	-17,5	19,0	38,1	10	-	5
O35900	U6 snRNA-associated Sm-like protein LSm2	<i>Lsm2</i>							-6,7	19,0	10,8	4	-	1	-10,0	19,0	10,8	9	-	1
Q3UPL0-1	Isoform 1 of Protein transport protein Sec31A	<i>Sec31a</i>							-13,9	3,0	133,4	6	-	3	-15,6	6,0	133,4	7	-	5
Q6GQT9	Nodal modulator 1	<i>Nomo1</i>							-8,9	2,0	133,2	3	-	2	-21,8	5,0	133,2	10	-	5
Q3TW96-1	Isoform 1 of UDP-N-acetylhexosamine pyrophosphorylase-like protein 1	<i>Uap111</i>							-8,9	6,0	56,5	2	-	2	-9,0	6,0	56,5	11	-	2
Q64191	N(4)-(beta-N-acetylglucosaminy)-L-asparaginase	<i>Aga</i>							-9,8	14,0	36,9	5	-	3	-14,4	8,0	36,9	7	-	3
Q8BMD8	Calcium-binding mitochondrial carrier protein SCaMC-1	<i>Slc25a24</i>							-5,4	2,0	52,8	5	-	1	-7,8	5,0	52,8	7	-	2
Q8VEH8	Endoplasmic reticulum lectin 1	<i>Erlec1</i>							-5,4	2,0	52,8	5	-	1	-7,8	5,0	52,8	7	-	2
Q8R016	Bleomycin hydrolase	<i>Blmh</i>							-9,2	5,0	52,4	4	-	2	-12,7	10,0	52,4	7	-	4

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9EQH3	Vacuolar protein sorting-associated protein 35	<i>Vps35</i>							-13,8	9,0	91,5	10	-	5	-4,4	3,0	91,5	2	-	2
Q7M739	Nuclear pore complex-associated intranuclear coiled-coil protein TPR	<i>Tpr</i>							-18,2	3,0	266,6	9	-	6	-7,0	1,0	266,6	3	-	3
Q3UFY7-1	Isoform 1 of Cytosolic 5'-nucleotidase III-like protein	<i>Nt5c3l</i>							-12,8	9,0	33,5	8	-	2	-4,6	8,0	33,5	4	-	2
Q91VR2	ATP synthase subunit gamma, mitochondrial	<i>Atp5c1</i>							-14,6	19,0	32,8	11	-	5	-2,9	4,0	32,8	1	-	1
Q80UU9	Membrane-associated progesterone receptor component 2	<i>Pgrmc2</i>							-5,4	6,0	23,2	2	-	1	-21,3	26,0	23,2	10	-	3
P13439	Uridine 5'-monophosphate synthase	<i>Umps</i>							-5,6	4,0	52,2	3	-	2	-14,3	11,0	52,2	9	-	4
Q9JJF0	Nucleosome assembly protein 1-like 5	<i>Nap1l5</i>							-7,2	15,0	16,9	6	-	2	-9,2	21,0	16,9	6	-	3
O54962	Barrier-to-autointegration factor	<i>Banf1</i>							-7,6	40,0	10,0	5	-	2	-8,9	40,0	10,0	7	-	2
O88545	COP9 signalosome complex subunit 6	<i>Cops6</i>							-4,1	12,0	35,8	3	-	2	-10,8	8,0	35,8	9	-	2
P18572-2	Isoform 2 of Basigin	<i>Bsg</i>							-6,9	10,0	29,6	2	-	2	-18,0	14,0	29,6	9	-	4
Q06890	Clusterin	<i>Clu</i>							-5,1	6,0	51,5	2	-	2	-13,1	10,0	51,5	9	-	3
Q3TMX5	Arginine-rich, mutated in early stage tumors, isoform CRA_b	<i>Manf</i>							-16,1	36,0	20,3	9	-	5	-7,7	7,0	20,3	2	-	1
Q9WVJ3-1	Isoform 1 of Plasma glutamate carboxypeptidase	<i>Pgcp</i>							-5,9	5,0	51,7	3	-	2	-10,9	5,0	51,7	8	-	2
Q64337-1	Isoform 1 of Sequestosome-1	<i>Sqstm1</i>							-9,0	3,0	48,0	2	-	1	-12,0	17,0	48,0	9	-	4
Q9Z0N1	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3, X-linked	<i>Eif2s3x</i>							-19,0	13,0	50,9	9	-	5	-7,1	6,0	50,9	2	-	2
E9Q4L8	Uncharacterized protein	<i>Ptbp1</i>							-17,5	16,0	56,5	9	-	6	-4,0	3,0	56,5	2	-	1
Q9QZ88-1	Isoform 1 of Vacuolar protein sorting-associated protein 29	<i>Vps29</i>							-9,5	12,0	20,4	6	-	3	-8,0	12,0	20,4	4	-	2
Q8QZT1	Acetyl-CoA acetyltransferase, mitochondrial	<i>Acat1</i>							-10,2	8,0	44,7	5	-	3	-6,7	5,0	44,7	5	-	2
Q6P5E4	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1	<i>Uggt1</i>							-23,7	4,0	176,2	9	-	6	-2,6	0,0	176,2	1	-	1
A2BDX3	Adenylyltransferase and sulfurtransferase MOCS3	<i>Mocs3</i>							-5,0	1,0	49,3	5	-	1	-4,1	1,0	49,3	5	-	1
O35855	Branched-chain-amino-acid aminotransferase, mitochondrial	<i>Bcat2</i>							-2,6	3,0	44,0	5	-	1	-5,5	7,0	44,0	5	-	2
P16675	Lysosomal protective protein	<i>Ctsa</i>							-3,4	2,0	53,7	2	-	1	-19,2	15,0	53,7	8	-	5
P51655	Glypican-4	<i>Gpc4</i>							-2,7	1,0	62,4	3	-	1	-12,6	10,0	62,4	7	-	4
Q9CXT8	Mitochondrial-processing peptidase subunit beta	<i>Pmpcb</i>							-2,7	2,0	54,5	1	-	1	-11,9	13,0	54,5	8	-	6
Q3UGL3	Putative uncharacterized protein	<i>Clint1</i>							-8,7	4,0	67,5	3	-	2	-14,2	10,0	67,5	7	-	4
Q9CQJ6	Density-regulated protein	<i>Denr</i>							-5,0	8,0	22,1	2	-	1	-14,3	8,0	22,1	7	-	2
P54822	Adenylosuccinate lyase	<i>Adsl</i>							-12,5	7,0	54,7	7	-	3	-6,9	2,0	54,7	2	-	1
Q8R2U4	Alpha N-terminal protein methyltransferase 1A	<i>Mettl11a</i>							-12,1	12,0	25,3	6	-	2	-6,9	12,0	25,3	3	-	2
Q8BLN5	Lanosterol synthase	<i>Lss</i>							-4,0	1,0	83,0	1	-	1	-12,3	5,0	83,0	8	-	3
O88456	Calpain small subunit 1	<i>Capns1</i>							-7,8	8,0	28,4	6	-	2	-6,0	8,0	28,4	3	-	2
P97807-1	Isoform Mitochondrial of Fumarate hydratase, mitochondrial	<i>Fh</i>							-18,2	8,0	54,2	7	-	3	-4,3	2,0	54,2	2	-	1
Q9EQH2	Endoplasmic reticulum aminopeptidase 1	<i>Erap1</i>							-4,4	1,0	106,4	5	-	1	-8,6	3,0	106,4	4	-	2
P06745	Glucose-6-phosphate isomerase	<i>Gpi</i>							-8,3	4,0	62,6	8	-	2	-4,4	3,0	62,6	1	-	1
Q62084	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 14B	<i>Ppp1r14b</i>							-10,6	34,0	15,9	7	-	2	-9,7	34,0	15,9	2	-	2
Q8C854-1	Isoform 3 of Myelin expression factor 2	<i>Myef2</i>							-6,4	4,0	52,1	6	-	1	-5,5	4,0	52,1	2	-	1
A2A7S7	Tyrosyl-tRNA synthetase	<i>Yars</i>							-7,8	4,0	62,9	4	-	2	-7,4	5,0	62,9	4	-	3
Q3TELO	Palmitoyl-protein thioesterase 1	<i>Ppt1</i>							-6,4	11,0	34,0	4	-	2	-4,4	4,0	34,0	4	-	1
Q91ZX7	Prolow-density lipoprotein receptor-related protein 1	<i>Lrp1</i>							-13,0	0,0	504,1	6	-	3	-6,4	0,0	504,1	2	-	2
P56812	Programmed cell death protein 5	<i>Pdcd5</i>							-9,1	18,0	14,2	4	-	2	-9,4	27,0	14,2	4	-	3
Q9DB77	Cytochrome b-c1 complex subunit 2, mitochondrial	<i>Uqcrc2</i>							-10,9	6,0	48,1	7	-	2	-7,4	3,0	48,1	1	-	1

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9QWR8	Alpha-N-acetylgalactosaminidase	<i>Naga</i>							-3,2	2,0	47,1	1	-	1	-9,7	8,0	47,1	7	-	3
P55302	Alpha-2-macroglobulin receptor-associated protein	<i>Lrpap1</i>							-10,8	13,0	42,1	4	-	3	-8,2	7,0	42,1	4	-	2
Q91V64	Isochorismatase domain-containing protein 1	<i>Isoc1</i>							-21,1	17,0	31,9	7	-	4	-3,2	5,0	31,9	1	-	1
P40124	Adenylyl cyclase-associated protein 1	<i>Cap1</i>							-14,2	8,0	51,4	6	-	3	-4,1	3,0	51,4	2	-	1
Q9CQ62	2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial	<i>Decr1</i>							-3,7	3,0	36,1	5	-	1	-3,8	3,0	36,1	3	-	1
Q9CR26	Vacuolar protein sorting-associated protein VTA1 homolog	<i>Vta1</i>							-4,3	4,0	33,8	4	-	1	-4,7	4,0	33,8	3	-	1
Q8C112	Putative uncharacterized protein (Fragment)	<i>Leprel4</i>							-5,2	5,0	51,3	3	-	2	-5,8	5,0	51,3	4	-	2
Q9D7M8	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB4	<i>Polr2d</i>							-5,8	10,0	16,2	2	-	1	-6,4	10,0	16,2	5	-	1
Q60676	Serine/threonine-protein phosphatase 5	<i>Ppp5c</i>							-3,0	2,0	56,7	1	-	1	-15,0	7,0	56,7	6	-	3
Q9CQ11	Methylthioribose-1-phosphate isomerase	<i>Mri1</i>							-8,0	7,0	39,3	4	-	2	-10,2	10,0	39,3	2	-	2
Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase, mitochondrial	<i>Hadh</i>							-3,6	3,0	34,4	4	-	1	-4,0	3,0	34,4	3	-	1
Q8CAY6	Acetyl-CoA acetyltransferase, cytosolic	<i>Acat2</i>							-7,7	9,0	41,2	4	-	2	-6,2	3,0	41,2	3	-	1
P35293	Ras-related protein Rab-18	<i>Rab18</i>							-3,7	4,0	22,9	1	-	1	-13,1	22,0	22,9	6	-	4
Q9D7B6	Isobutyryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Acad8</i>							-6,9	6,0	44,9	3	-	2	-10,6	6,0	44,9	4	-	2
Q7TQ40	Zinc finger protein ZIC 5	<i>Zic5</i>							-3,2	2,0	64,4	4	-	1	-3,6	2,0	64,4	3	-	1
Q9DCG9	tRNA methyltransferase 112 homolog	<i>Trmt112</i>							-8,4	21,0	14,1	5	-	2	-3,7	9,0	14,1	2	-	1
Q9WUA3-1	Isoform 1 of 6-phosphofructokinase type C	<i>Pfkp</i>							-3,5	1,0	85,3	1	-	1	-7,9	4,0	85,3	5	-	2
Q35344	Importin subunit alpha-3	<i>Kpna3</i>							-3,9	2,0	57,6	1	-	1	-7,7	6,0	57,6	4	-	2
Q8CC35-1	Isoform 1 of Synaptopodin	<i>Synpo</i>							-10,0	2,0	99,4	5	-	2	-5,0	1,0	99,4	1	-	1
Q61595-10	Isoform 10 of Kinectin	<i>Ktn1</i>							-8,9	1,0	146,4	3	-	2	-10,2	2,0	146,4	3	-	2
P06797	Cathepsin L1	<i>Ctsl1</i>							-6,0	10,0	37,4	4	-	2	-5,3	10,0	37,4	2	-	2
Q3TCN2-1	Isoform 1 of Putative phospholipase B-like 2	<i>Plbd2</i>							-7,6	2,0	66,1	2	-	1	-2,9	4,0	26,2	2	-	1
Q8BFR4	N-acetylglucosamine-6-sulfatase	<i>Gns</i>							-5,0	2,0	61,0	1	-	1	6,0	61,0	5,0	-	3	0
Q8BFY6	Peflin	<i>Pef1</i>							-5,6	4,0	29,1	4	-	1	-5,1	9,0	29,1	2	-	2
P62835	Ras-related protein Rap-1A	<i>Rap1a</i>							-3,3	5,0	20,9	1	-	1	-6,2	11,0	20,9	5	-	2
Q91WV0	Protein Dr1	<i>Dr1</i>							-3,4	7,0	19,3	2	-	1	-3,3	7,0	19,3	4	-	1
Q60876	Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1	<i>Eif4ebp1</i>							-3,3	10,0	12,2	3	-	1	-3,1	10,0	12,2	2	-	1
Q924M7	Mannose-6-phosphate isomerase	<i>Mpi</i>							-7,3	6,0	46,5	3	-	2	-7,4	3,0	46,5	2	-	1
P62488	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB7	<i>Polr2g</i>							-5,0	7,0	19,2	2	-	1	-10,7	20,0	19,2	3	-	3
P98078-1	Isoform p96 of Disabled homolog 2	<i>Dab2</i>							-5,4	3,0	82,2	2	-	2	-6,3	2,0	82,2	2	-	1
Q9WUP7-1	Isoform 1 of Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L5	<i>Uchl5</i>							-3,7	3,0	37,5	1	-	1	-4,1	6,0	37,5	4	-	2
P35486	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha, somatic form, mitochondrial	<i>Pdha1</i>							-5,3	3,0	43,1	3	-	1	-3,8	3,0	43,1	1	-	1
Q9CVB6	Actin-related protein 2/3 complex subunit 2	<i>Arpc2</i>							-5,9	12,0	34,3	3	-	3	-5,4	8,0	34,3	2	-	2
P09671	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial	<i>Sod2</i>							-7,0	12,0	24,5	3	-	2	-4,4	6,0	24,5	2	-	1
A2ARJ0	Signal transducing adaptor molecule (SH3 domain and 11AM motif) 1 (Fragment)	<i>Stam</i>							-3,0	5,0	22,5	2	-	1	-4,1	5,0	22,5	3	-	1
Q9JHQ5	Leucine zipper transcription factor-like protein 1	<i>Lztfl1</i>							-12,0	15,0	34,7	3	-	3	-5,6	5,0	34,7	1	-	1
Q3UI33	Methionine aminopeptidase	<i>Metap2</i>							-6,4	10,0	54,0	3	-	3	-5,8	6,0	54,0	2	-	2
P62996-1	Isoform 1 of Transformer-2 protein homolog beta	<i>Tra2b</i>							-7,5	4,0	33,6	2	-	1	-8,0	10,0	33,6	3	-	2
Q8BV14	Dihydropteridine reductase	<i>Qdpr</i>							-4,4	6,0	25,5	2	-	1	-6,1	6,0	25,5	3	-	1
Q9CZR8	Elongation factor Ts, mitochondrial	<i>Tsfm</i>							-4,2	8,0	35,2	1	-	1	-10,7	12,0	35,2	4	-	2

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q62193	Replication protein A 32 kDa subunit	<i>Rpa2</i>							-4,1	8,0	29,6	2	-	2	-6,7	12,0	29,6	3	-	2
Q99L6	Glutathione peroxidase 7	<i>Gpx7</i>							-6,4	12,0	21,0	4	-	2	-6,1	6,0	21,0	1	-	1
O08788-1	Isoform 1 of Dynactin subunit 1	<i>Dctn1</i>							-6,7	1,0	141,5	3	-	2	-3,4	0,0	141,5	1	-	1
Q8BMP6	Golgi resident protein GCP60	<i>Acbd3</i>							-5,0	2,0	60,0	2	-	1	-4,7	2,0	60,0	2	-	1
O70318	Band 4.1-like protein 2	<i>Epb4112</i>							-4,8	1,0	109,6	1	-	1	-8,5	2,0	109,6	3	-	2
Q9D927	Putative uncharacterized protein	<i>1810009N02Rik</i>							-4,1	6,0	25,0	1	-	1	-4,9	6,0	25,0	3	-	1
Q91WT9-1	Isoform 1 of Cystathionine beta-synthase	<i>Cbs</i>							-3,7	1,0	61,4	2	-	1	-3,8	1,0	61,4	2	-	1
O55057	Retinal rod rhodopsin-sensitive cGMP 3',5'-cyclic diphosphodiesterase subunit delta	<i>Pde6d</i>							-6,6	15,0	17,3	3	-	2	-3,5	7,0	17,3	1	-	1
Q9WV80	Sorting nexin-1	<i>Snx1</i>							-3,3	2,0	58,8	1	-	1	-8,9	7,0	58,8	3	-	3
Q01405	Protein transport protein Sec23A	<i>Sec23a</i>							-6,6	1,0	86,0	2	-	1	-4,2	3,0	86,0	2	-	2
Q8BGS2-1	Isoform 1 of Bola-like protein 2	<i>Bola2</i>							-6,9	32,0	10,1	3	-	2	-3,9	10,0	10,1	1	-	1
Q9ET26	RING finger protein 114	<i>Rnf114</i>							-4,6	7,0	25,6	3	-	1	-3,4	7,0	25,6	1	-	1
Q9WTX8-1	Isoform 1 of Mitotic spindle assembly checkpoint protein MAD1	<i>Mad111</i>							-3,5	2,0	83,4	1	-	1	-13,4	5,0	83,4	3	-	3
Q99KK7	Dipeptidyl peptidase 3	<i>Dpp3</i>							-5,4	2,0	82,7	1	-	1	-7,0	2,0	82,7	3	-	1
P32921-1	Isoform 1 of Tryptophanyl-tRNA synthetase, cytoplasmic	<i>Wars</i>							-7,7	3,0	54,2	2	-	1	-10,8	7,0	54,2	2	-	2
Q6P5G6	UBX domain-containing protein 7	<i>Ubx7</i>							-4,7	2,0	52,0	2	-	1	-4,5	2,0	52,0	2	-	1
Q80Y14	Glutaredoxin-related protein 5, mitochondrial	<i>Glrx5</i>							-10,1	18,0	16,2	3	-	2	-4,4	9,0	16,2	1	-	1
Q3TL27	Putative uncharacterized protein	<i>Xpnpep1</i>							-4,0	2,0	65,9	3	-	1	-3,2	1,0	65,9	1	-	1
Q9CWY8	Ribonuclease H2 subunit A	<i>Rnaseh2a</i>							-7,1	8,0	33,4	3	-	2	-4,9	5,0	33,4	1	-	1
Q9DAU1-1	Isoform 1 of Protein canopy homolog 3	<i>Cnpy3</i>							-4,6	11,0	30,4	2	-	2	-6,5	11,0	30,4	2	-	2
P18654	Ribosomal protein S6 kinase alpha-3	<i>Rps6ka3</i>							-3,2	1,0	83,5	1	-	1	-7,4	4,0	83,5	3	-	3
P97450	ATP synthase-coupling factor 6, mitochondrial	<i>Atp5j</i>							-4,8	33,0	12,4	2	-	2	-7,2	33,0	12,4	2	-	2
Q3V3R1	Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase, mitochondrial	<i>Mthfd11</i>							-4,2	2,0	105,5	3	-	2	-5,6	1,0	105,5	1	-	1
Q8CHU3-1	Isoform 1 of Epsin-2	<i>Epn2</i>							-8,1	4,0	63,3	2	-	2	-3,5	1,0	63,3	2	-	1
Q9CQY3	Putative uncharacterized protein	<i>Atp5l</i>							-7,5	11,0	14,1	3	-	1	-5,5	11,0	14,1	1	-	1
O70378	Neighbor of COX4	<i>Cox4nb</i>							-11,1	12,0	23,3	3	-	2	-3,4	6,0	23,3	1	-	1
P29416	Beta-hexosaminidase subunit alpha	<i>Hexa</i>							-2,9	1,0	60,5	1	-	1	-5,8	4,0	60,5	3	-	2
Q3UPH1	Protein PRRC1	<i>Prrc1</i>							-3,9	4,0	46,2	2	-	1	-7,0	6,0	46,2	2	-	2
P53810	Phosphatidylinositol transfer protein alpha isoform	<i>Pitpna</i>							-4,2	4,0	31,8	3	-	1	-2,9	8,0	31,8	1	-	1
Q8JZL3	Thiamine-triphosphatase	<i>Thtpa</i>							-7,6	7,0	24,2	1	-	1	-10,0	7,0	24,2	2	-	1
Q9JIY5	Serine protease HTRA2, mitochondrial	<i>Htra2</i>							-4,2	2,0	49,2	1	-	1	-3,3	2,0	49,2	1	-	1
P61222	ATP-binding cassette sub-family E member 1	<i>Abce1</i>							-6,4	4,0	67,2	2	-	2	-3,5	2,0	67,2	1	-	1
Q7TMY4-1	Isoform 1 of THO complex subunit 7 homolog	<i>Thoc7</i>							-2,5	4,0	23,6	1	-	1	-6,6	11,0	23,6	2	-	2
P83877	Thioredoxin-like protein 4A	<i>Txn14a</i>							-3,4	7,0	16,7	1	-	1	-2,8	7,0	16,7	1	-	1
Q6P4P1-1	Isoform 1 of Serine protease inhibitor A3A	<i>Serpina3a</i>							-5,3	3,0	47,6	1	-	1	-7,4	6,0	47,6	2	-	2
Q6A068	Cell division cycle 5-related protein	<i>Cdc5l</i>							-2,9	1,0	92,0	1	-	1	-4,1	1,0	92,0	2	-	1
P62897	Cytochrome c, somatic	<i>Cyts</i>							-5,1	13,0	11,5	2	-	1	-3,7	13,0	11,5	1	-	1
Q922P9	Putative oxidoreductase GLYR1	<i>Glyr1</i>							-4,1	2,0	59,6	1	-	1	-6,9	4,0	59,6	2	-	2
Q8BMS1	Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	<i>Hadha</i>							-5,9	2,0	82,5	2	-	1	-4,5	2,0	82,5	1	-	1
Q6P8I4	PEST proteolytic signal-containing nuclear protein	<i>Pcnp</i>							-4,1	6,0	18,9	2	-	1	-3,0	7,0	18,9	1	-	1

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9R008	Mevalonate kinase	<i>Mvk</i>							-3,2	3,0	41,8	2	-	1	-3,5	3,0	41,8	1	-	1
Q8VE80	THO complex subunit 3	<i>Thoc3</i>							-3,3	2,0	38,6	1	-	1	-6,1	5,0	38,6	2	-	2
Q99K48-1	Isoform 1 of Non-POU domain-containing octamer-binding protein	<i>Nano</i>							-4,8	5,0	54,4	2	-	2	-3,9	2,0	54,4	1	-	1
Q9DC13	Lysosomal membrane glycoprotein 1, isoform CRA_a	<i>Lamp1</i>							-3,3	2,0	43,8	2	-	1	-3,3	2,0	43,8	1	-	1
Q88WU5	Probable tRNA threonylcarbamoyladenosine biosynthesis protein Oseep	<i>Oseep</i>							-2,9	5,0	36,2	1	-	1	-5,8	3,0	36,2	2	-	1
Q9D967	Magnesium-dependent phosphatase 1	<i>Mdp1</i>							-3,3	7,0	18,5	2	-	1	-3,9	7,0	18,5	1	-	1
Q64520	Guanylate kinase	<i>Guk1</i>							-6,6	8,0	21,8	1	-	1	-7,9	14,0	21,8	2	-	2
Q64442	Sorbitol dehydrogenase	<i>Sord</i>							-3,1	4,0	38,1	1	-	1	-6,5	7,0	38,1	2	-	2
Q923B1	Lariat debranching enzyme	<i>Dbr1</i>							-5,4	2,0	62,2	1	-	1	-8,3	2,0	62,2	1	-	1
Q9QZ06	Toll-interacting protein	<i>Tollip</i>							-3,0	5,0	30,2	1	-	1	-4,0	5,0	30,2	1	-	1
Q9EQX4	Allograft inflammatory factor 1-like	<i>Aif1l</i>							-5,7	10,0	16,9	1	-	1	-2,7	6,0	16,9	1	-	1
Q99M27	Peroxisomal trans-2-enoyl-CoA reductase	<i>Pecr</i>							-5,0	4,0	32,3	1	-	1	-4,2	4,0	32,3	1	-	1
Q99LM2	CDK5 regulatory subunit-associated protein 3	<i>Cdk5rap3</i>							-4,0	2,0	56,9	1	-	1	-6,5	2,0	56,9	1	-	1
Q922H2	[Pyruvate dehydrogenase (lipoamide)] kinase isozyme 3, mitochondrial	<i>Pdk3</i>							-5,1	3,0	47,8	1	-	1	-5,4	3,0	47,8	1	-	1
Q8BME1	Putative uncharacterized protein	<i>Pgm3</i>							-3,7	2,0	60,3	1	-	1	-3,0	2,0	60,3	1	-	1
Q91VA6	Polymerase delta-interacting protein 2	<i>Poldip2</i>							-3,2	3,0	41,8	1	-	1	-3,0	3,0	41,8	1	-	1
Q9CX86	Putative uncharacterized protein	<i>Hnrnpa0</i>							-4,7	5,0	30,4	1	-	1	-4,6	5,0	30,4	1	-	1
Q9QXF7	F-box-like/WD repeat-containing protein TBL1X	<i>Tbl1x</i>							-3,8	2,0	56,7	1	-	1	-4,5	2,0	56,7	1	-	1
P45952	Medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Acadm</i>							-3,7	3,0	46,4	1	-	1	-5,1	3,0	46,4	1	-	1
Q8VEE4	Replication protein A 70 kDa DNA-binding subunit	<i>Rpa1</i>							-3,0	1,0	68,9	1	-	1	-3,1	2,0	68,9	1	-	1
Q80U83	MKIAA0079 protein (Fragment)	<i>Sec24c</i>							-3,9	1,0	112,2	1	-	1	-5,0	1,0	112,2	1	-	1
Q921M4-1	Isoform 1 of Golgin subfamily A member 2	<i>Golga2</i>							-4,0	1,0	113,1	1	-	1	-3,2	1,0	113,1	1	-	1
P11404	Fatty acid-binding protein, heart	<i>Fabp3</i>							-2,8	10,0	14,7	1	-	1	-5,0	10,0	14,7	1	-	1
O55106	Striatin	<i>Strn</i>							-6,0	1,0	85,9	4	-	1	-3,8	1,0	85,9	1	-	1
P24270	Catalase	<i>Cat</i>							-21,6	15,0	59,6	11	-	6	-8,2	4,0	59,6	5	-	2
P32020-1	Isoform SCPx of Non-specific lipid-transfer protein	<i>Scp2</i>							-3,0	1,0	59,0	1	-	1	-4,8	3,0	59,0	3	-	2
B1AT82	MCG6846, isoform CRA_c	<i>Prpsap1</i>							-7,9	10,0	42,4	3	-	3	-2,6	3,0	42,4	2	-	1
Q9D0R2	Threonyl-tRNA synthetase, cytoplasmic	<i>Tars</i>							-5,0	3,0	83,2	2	-	2	-2,7	1,0	83,2	1	-	1
E9Q509	Pyruvate kinase	<i>Pklr</i>													-5,5	3,0	58,7	21	1	2
P38647	Stress-70 protein, mitochondrial	<i>Hspa9</i>													-120,8	43,0	73,4	234	1	23
Q80ZJ2	Impa1 protein	<i>Impa1</i>													-19,9	24,0	29,8	17	1	5
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	<i>Hspa2</i>													-56,4	15,0	69,6	318	1	11
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	<i>Hspa1l</i>													-46,7	16,0	70,5	245	1	10
E9Q2D1	Uncharacterized protein	<i>Actb</i>													-45,2	47,0	11,3	240	3	8
Q9D6F9	Tubulin beta-4A chain	<i>Tubb4a</i>													-114,0	56,0	49,5	558	1	22
P68369	Tubulin alpha-1A chain	<i>Tuba1a</i>													-121,4	55,0	50,0	982	1	20
P05213	Tubulin alpha-1B chain	<i>Tuba1b</i>													-126,6	56,0	50,0	1070	2	21
P17183	Gamma-enolase	<i>Eno2</i>													-46,6	17,0	47,2	249	1	8
E9Q8G8	Uncharacterized protein	<i>P4hb</i>													-43,4	50,0	18,4	124	1	12
Q8CEV2	Putative uncharacterized protein	<i>3000002C10Rik</i>													-6,9	17,0	16,4	34	1	2

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
P48722-1	Isoform 1 of Heat shock 70 kDa protein 4L	<i>Hspa4l</i>													-7,6	3,0	94,2	6	1	2
O70250	Phosphoglycerate mutase 2	<i>Pgam2</i>													-22,6	18,0	28,7	36	1	6
Q68FL4-1	Isoform 1 of Putative adenosylhomocysteinase 3	<i>Ahcy12</i>													-6,2	3,0	66,8	2	1	2
O88685	26S protease regulatory subunit 6A	<i>Psmc3</i>													-55,2	37,0	49,4	75	1	13
P50396	Rab GDP dissociation inhibitor alpha	<i>Gdi1</i>													-39,1	25,0	50,4	35	5	9
P63011	Ras-related protein Rab-3A	<i>Rab3a</i>													-7,9	12,0	24,9	8	1	2
Q60715-2	Isoform 2 of Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1	<i>P4ha1</i>													-58,9	23,0	60,7	57	1	11
Q9D6R2-2	Isoform 2 of Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha, mitochondrial	<i>Idh3a</i>													-33,1	33,0	31,4	38	1	9
Q91X78	Erlin-1	<i>Erlin1</i>													-13,5	11,0	38,8	15	1	3
P10605	Cathepsin B	<i>Ctsb</i>													-39,8	26,0	37,2	32	-	8
P61164	Alpha-centractin	<i>Actr1a</i>													-17,6	12,0	42,5	8	1	3
Q9WUU7	Cathepsin Z	<i>Ctsz</i>													-18,7	11,0	33,9	17	-	3
Q9QUI0	Transforming protein RhoA	<i>Rhoa</i>													-20,6	28,0	21,7	12	1	4
Q62159	Rho-related GTP-binding protein RhoC	<i>Rhoc</i>													-22,0	28,0	21,9	10	1	4
Q88GJ9	Splicing factor U2AF 26 kDa subunit	<i>U2af14</i>													-8,1	10,0	25,7	13	-	2
P55264-1	Isoform Long of Adenosine kinase	<i>Adk</i>													-10,5	13,0	40,0	8	-	4
Q9DBZ1-1	Isoform 1 of inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase-interacting protein	<i>Ikbip</i>													-20,0	18,0	42,4	9	-	5
Q9R0E2	Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1	<i>Plod1</i>													-16,8	9,0	83,4	8	-	5
Q99K87	Serine hydroxymethyltransferase	<i>Shmt2</i>													-3,5	2,0	55,6	1	-	1
P81117	Nucleobindin-2	<i>Nucb2</i>													-7,8	8,0	50,2	7	-	3
P63094-1	Isoform Gnas-1 of Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha isoforms short	<i>Gnas</i>													-6,9	6,0	45,5	4	1	2
Q9DC51	Guanine nucleotide-binding protein G(k) subunit alpha	<i>Gnai3</i>													-6,0	7,0	40,4	4	1	2
O08579	Emerin	<i>Emd</i>													-16,8	20,0	29,3	7	-	4
Q6NVG7	Procollagen galactosyltransferase 2	<i>Glt25d2</i>													-11,1	7,0	72,6	7	-	4
P97370	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3	<i>Atp1b3</i>													-4,5	5,0	31,7	5	-	1
D3YYT8	Uncharacterized protein	<i>Mpst</i>													-13,0	13,0	33,2	6	-	3
Q60648	Ganglioside GM2 activator	<i>Gm2a</i>													-10,9	25,0	20,7	6	-	4
Q8QZY9	Splicing factor 3B subunit 4	<i>Sf3b4</i>													-5,1	3,0	44,2	5	-	1
Q78IS1	Transmembrane emp24 domain-containing protein 3	<i>Tmed3</i>													-9,7	10,0	25,4	5	-	2
Q9D0L8-1	Isoform 1 of mRNA cap guanine-N7 methyltransferase	<i>Rnmt</i>													-16,7	9,0	53,2	3	-	3
Q9JHJ0	Tropomodulin-3	<i>Tmod3</i>													-10,0	9,0	39,4	5	-	3
P97821	Dipeptidyl peptidase 1	<i>Ctsc</i>													-4,2	2,0	52,2	5	-	1
O55013	Trafficking protein particle complex subunit 3	<i>Trappc3</i>													-8,2	19,0	20,2	4	-	3
O54879	High mobility group protein B3	<i>Hmgb3</i>													-3,3	5,0	22,9	5	-	1
P58242	Acid sphingomyelinase-like phosphodiesterase 3b	<i>Smpd13b</i>													-6,7	8,0	51,5	5	-	2
P60487	Pyridoxal phosphate phosphatase	<i>Pdpx</i>													-10,9	10,0	31,4	5	-	2
Q88T27	Mannose-1-phosphate guanyltransferase beta	<i>Gmppb</i>													-7,2	6,0	39,8	4	-	2
Q62087	Serum paraoxonase/lactonase 3	<i>Pon3</i>													-3,7	4,0	39,2	4	-	1
Q8VH13	GDP-fucose protein O-fucosyltransferase 2	<i>Pofut2</i>													-12,2	11,0	49,3	5	-	4
Q9CW46-1	Isoform 1 of Ribonucleoprotein PTB-binding 1	<i>Raver1</i>													-7,3	5,0	79,2	5	-	3

			IS					RMS					FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	
Q8CF66	UPF0539 protein C7orf59 homolog	<i>Lamtor4</i>											-4,0	10,0	10,6	2	-	1
Q60631-1	Isoform 1 of Growth factor receptor-bound protein 2	<i>Grb2</i>											-4,0	5,0	25,1	1	-	1
Q9QX60-1	Isoform 1 of Deoxyguanosine kinase, mitochondrial	<i>Dguok</i>											-9,1	9,0	32,1	4	-	2
Q8VCA8	Secernin-2	<i>Scrn2</i>											-8,9	9,0	46,5	4	-	3
O35405	Phospholipase D3	<i>Pld3</i>											-5,5	4,0	54,3	4	-	2
Q6P8X1	Sorting nexin-6	<i>Snx6</i>											-6,6	6,0	46,5	3	-	2
Q64737-1	Isoform Long of Trifunctional purine biosynthetic protein adenosine-3	<i>Gart</i>											-5,3	1,0	107,2	3	-	1
P70699	Lysosomal alpha-glucosidase	<i>Gaa</i>											-14,6	4,0	106,1	4	-	3
P50544	Very long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Acadvl</i>											-9,7	6,0	70,7	4	-	3
Q9R013	Cathepsin F	<i>Ctsf</i>											-6,6	6,0	51,5	4	-	2
Q9DBB8	Trans-1,2-dihydrobenzene-1,2-diol dehydrogenase	<i>Dhdh</i>											-11,6	14,0	36,2	4	-	4
Q99K23	Ufm1-specific protease 2	<i>Ufsp2</i>											-3,1	4,0	52,4	4	-	1
Q9JI10-1	Isoform 1 of Serine/threonine-protein kinase 3	<i>Stk3</i>											-6,7	7,0	56,7	3	-	3
Q99J09	Methylosome protein 50	<i>Wdr77</i>											-5,3	4,0	36,8	4	-	1
Q91W50	Cold shock domain-containing protein E1	<i>Csde1</i>											-7,7	4,0	88,6	4	-	3
Q5XG73-2	Isoform 2 of Acyl-CoA-binding domain-containing protein 5	<i>Acbd5</i>											-3,5	2,0	52,2	3	-	1
Q9CQ48	NudC domain-containing protein 2	<i>Nudcd2</i>											-12,8	18,0	17,6	3	-	2
Q8BT60	Copinc-3	<i>Cpnc3</i>											-5,8	4,0	59,4	2	-	2
O70252	Heme oxygenase 2	<i>Hmox2</i>											-8,2	12,0	35,6	3	-	2
Q8BVQ5	Protein phosphatase methylesterase 1	<i>Ppme1</i>											-4,9	9,0	42,1	3	-	2
Q99JX3-1	Isoform 1 of Golgi reassembly-stacking protein 2	<i>Gorasp2</i>											-5,5	7,0	46,9	3	-	2
Q9EQJ8	39S ribosomal protein L46, mitochondrial	<i>Mrpl46</i>											-6,5	8,0	32,0	3	-	2
P50543	Protein S100-A11	<i>S100a11</i>											-10,1	27,0	11,0	2	-	2
O09159	Lysosomal alpha-mannosidase	<i>Man2b1</i>											-9,7	2,0	114,4	3	-	2
Q8BP47	Asparaginyl-tRNA synthetase, cytoplasmic	<i>Nars</i>											-4,7	2,0	64,1	3	-	1
Q9Z0J0	Epididymal secretory protein E1	<i>Npc2</i>											-7,7	15,0	16,4	3	-	2
Q4KML4	Costars family protein C6orf115 homolog	<i>Abrac1</i>											-3,1	19,0	9,0	3	-	1
Q9Z0P4-1	Isoform 1 of Paralemmin	<i>Palm</i>											-4,6	3,0	41,5	2	-	1
P61922-1	Isoform 1 of 4-aminobutyrate aminotransferase, mitochondrial	<i>Abat</i>											-4,1	4,0	56,3	2	-	2
P46414	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B	<i>Cdkn1b</i>											-4,3	6,0	22,1	2	-	1
Q3TDN2-1	Isoform 1 of FAS-associated factor 2	<i>Faf2</i>											-3,3	2,0	52,3	2	-	1
O89017	Legumain	<i>Lgmn</i>											-4,9	2,0	49,2	2	-	1
Q9JHP7-1	Isoform 1 of KDEL motif-containing protein 1	<i>Kdelc1</i>											-6,6	3,0	57,9	2	-	1
Q3U944	Putative uncharacterized protein	<i>Lman1</i>											-3,7	2,0	61,1	2	-	1
Q9CZW5	Mitochondrial import receptor subunit TOM70	<i>Tomm70a</i>											-4,4	1,0	67,4	2	-	1
P17897	Lysozyme C-1	<i>Lyz1</i>											-3,8	8,0	16,7	2	-	1
Q9DBR0	A-kinase anchor protein 8	<i>Akap8</i>											-5,4	2,0	76,1	2	-	1
P70665-1	Isoform 1 of Sialate O-acetyltransferase	<i>Siae</i>											-3,4	2,0	60,6	2	-	1
P70441-1	Isoform 1 of Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF1	<i>Slc9a3r1</i>											-3,8	6,0	38,5	2	-	1
Q9EPJ9-1	Isoform 1 of ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein 1	<i>Arfgap1</i>											-6,2	3,0	45,2	2	-	1

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Molaire (KDa)	Spectres	Pep Specif Uniq	Pep Uniq
P56873	Sjogren syndrome/scleroderma autoantigen 1 homolog	<i>Sscca1</i>													-4,1	13,0	21,2	2	-	1
Q3TIV5-1	Isoform 1 of Zinc finger CCCH domain-containing protein 15	<i>Zc3h15</i>													-6,9	7,0	48,2	2	-	2
Q8BSE0	Regulator of microtubule dynamics protein 2	<i>Fam82a1</i>													-7,3	6,0	46,9	2	-	2
Q9WU29	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5	<i>Entpd5</i>													-3,2	3,0	47,0	2	-	1
P08556	GTPase NRas	<i>Nras</i>													-3,7	6,0	21,1	2	-	1
Q61823	Programmed cell death protein 4	<i>Pdcd4</i>													-3,3	2,0	51,6	2	-	1
Q6PEB6	Mps one binder kinase activator-like 3	<i>Mobk3</i>													-3,4	10,0	25,9	2	-	2
Q91VM5	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G-like 1	<i>Rbmx1</i>													-4,1	3,0	42,0	2	-	1
Q9D0J4	ADP-ribosylation factor-like protein 2	<i>Arl2</i>													-6,1	11,0	20,8	2	-	2
Q99P88	Nuclear pore complex protein Nup155	<i>Nup155</i>													-3,2	0,0	154,9	1	-	1
Q9ESZ8-1	Isoform 1 of General transcription factor II-I	<i>Gtf2i</i>													-7,5	1,0	112,1	2	-	1
Q3U3J1	Branched chain ketoacid dehydrogenase E1, alpha polypeptide	<i>Bckdha</i>													-6,2	5,0	50,6	2	-	2
P07214	SPARC	<i>Sparc</i>													-9,1	9,0	34,3	2	-	2
Q00PI9	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like protein 2	<i>Hnrnpu2</i>													-6,1	1,0	84,8	2	-	1
P97765	WW domain-binding protein 2	<i>Wbp2</i>													-6,0	7,0	27,9	2	-	2
O55201-1	Isoform 1 of Transcription elongation factor SPT5	<i>Supt5h</i>													-4,6	1,0	120,5	2	-	1
P53811	Phosphatidylinositol transfer protein beta isoform	<i>Pitpnb</i>													-3,3	4,0	31,4	1	-	1
O88448	Kinesin light chain 2	<i>Klc2</i>													-10,2	5,0	66,5	2	-	2
Q8R059	UDP-glucose 4-epimerase	<i>Gale</i>													-7,5	10,0	38,1	2	-	2
Q8BHJ5	F-box-like/WD repeat-containing protein TBL1XR1	<i>Tbl1xr1</i>													-6,6	4,0	55,5	2	-	1
P02802	Metallothionein-1	<i>Mt1</i>													-4,3	35,0	5,9	1	-	1
P52432	DNA-directed RNA polymerases I and III subunit RPAC1	<i>Poir1e</i>													-3,3	2,0	39,0	1	-	1
Q8R5H1-1	Isoform 1 of Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 15	<i>Usp15</i>													-3,6	1,0	112,1	1	-	1
Q63829	COMM domain-containing protein 3	<i>Comm3</i>													-3,6	4,0	21,9	1	-	1
Q9JLR9	HIG1 domain family member 1A	<i>Higd1a</i>													-6,0	18,0	10,3	1	-	1
Q5F2E7-1	Isoform 1 of Nuclear fragile X mental retardation-interacting protein 2	<i>Nufip2</i>													-6,3	1,0	75,5	1	-	1
Q9QZ08	N-acetyl-D-glucosamine kinase	<i>Nagk</i>													-4,6	3,0	37,2	1	-	1
Q6PD26	GPI transamidase component PIG-S	<i>Pigs</i>													-4,4	2,0	61,6	1	-	1
Q8K3H0	DCC-interacting protein 13-alpha	<i>App11</i>													-3,4	1,0	79,2	1	-	1
Q9D864	Actin-related protein 6	<i>Actr6</i>													-6,8	3,0	45,7	1	-	1
Q9D6J5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 8, mitochondrial	<i>Ndufb8</i>													-3,5	5,0	21,8	1	-	1
Q3THK3	General transcription factor IIF subunit 1	<i>Gtf2f1</i>													-4,7	3,0	57,1	1	-	1
Q8VD04	GRIP1-associated protein 1	<i>Gripap1</i>													-3,4	1,0	92,5	1	-	1
Q9CWU9	Nucleoporin Nup37	<i>Nup37</i>													-3,1	4,0	36,6	1	-	1
Q99LC2	Cleavage stimulation factor subunit 1	<i>Cstf1</i>													-6,3	3,0	48,3	1	-	1
Q9JIQ3	Diablo homolog, mitochondrial	<i>Diablo</i>													-3,8	8,0	26,7	1	-	1
A2ALV5	Likely orthologue of H. sapiens chromosome 9 open reading frame 84	<i>AI481877</i>													-3,1	1,0	167,8	1	-	1
Q8K297	Procollagen galactosyltransferase 1	<i>Glt25d1</i>													-4,5	2,0	70,9	1	-	1
Q9DCV4	Regulator of microtubule dynamics protein 1	<i>Fam82b</i>													-4,3	3,0	34,9	1	-	1
A1L3T3	N-sulfoglucosamine sulfohydrolase (Sulfamidase)	<i>Sgsh</i>													-5,2	2,0	56,6	1	-	1

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9ER39	Torsin-1A	<i>Tor1a</i>													-3,9	3,0	37,7	1	-	1
Q9ERR7	15 kDa selenoprotein	<i>Sep15</i>													-3,1	7,0	17,6	1	-	1
O35648	Centrin-3	<i>Cetn3</i>													-3,6	7,0	19,4	1	-	1
Q3TLY5	Putative uncharacterized protein	<i>Gla</i>													-4,8	2,0	47,7	1	-	1
Q6NSR8	Probable aminopeptidase NPEPL1	<i>Npepl1</i>													-5,2	2,0	55,8	1	-	1
Q8BFS6-1	Isoform 1 of Calcineurin-like phosphoesterase domain-containing protein 1	<i>Cpped1</i>													-3,4	3,0	35,1	1	-	1
Q57119	Aldehyde dehydrogenase family 16 member A1	<i>Aldh16a1</i>													-3,9	1,0	84,6	1	-	1
Q8K0Q5	Rho GTPase-activating protein 18	<i>Arhgap18</i>													-4,2	1,0	74,8	1	-	1
Q3UJB9-1	Isoform 1 of Enhancer of mRNA-decapping protein 4	<i>Edc4</i>													-6,5	1,0	152,2	1	-	1
Q9EPC1	Alpha-parvin	<i>Parva</i>													-6,3	4,0	42,2	1	-	1
Q9EP71	Ankycorbin	<i>Rai14</i>													-4,3	1,0	108,7	1	-	1
Q9Z0Y1	Dynactin subunit 3	<i>Dctn3</i>													-3,5	5,0	20,9	1	-	1
Q6DIC0	Probable global transcription activator SNF2L2	<i>Smarca2</i>													-4,5	0,0	180,0	1	-	1
Q8CI32	BAG family molecular chaperone regulator 5	<i>Bag5</i>													-5,2	3,0	50,8	1	-	1
Q64213-1	Isoform CW17 of Splicing factor 1	<i>Sf1</i>													-3,3	2,0	70,3	1	-	1
P24452	Macrophage-capping protein	<i>Capg</i>													-4,9	3,0	39,1	1	-	1
Q9CPX6	Ubiquitin-like-conjugating enzyme ATG3	<i>Atg3</i>													-3,4	4,0	35,7	1	-	1
P56380	Bis(5'-nucleosyl)-tetraphosphatase [asymmetrical]	<i>Nudt2</i>													-4,3	9,0	16,9	1	-	1
Q80TH2-1	Isoform 1 of Protein LAP2	<i>Erbp2ip</i>													-4,4	0,0	154,1	1	-	1
Q6PDG5-1	Isoform 1 of SWI/SNF complex subunit SMARCC2	<i>Smarca2</i>													-3,6	1,0	132,4	1	-	1
Q8C166	Copine-1	<i>Cpne1</i>													-3,1	1,0	58,8	1	-	1
Q8C5W3-1	Isoform 1 of Tubulin-specific chaperone cofactor E-like protein	<i>Tbcel</i>													-3,9	3,0	47,9	1	-	1
Q9EPU0-1	Isoform 1 of Regulator of nonsense transcripts 1	<i>Upf1</i>													-4,2	0,0	123,8	1	-	1
Q8N7N5-1	Isoform 1 of DDB1- and CUL4-associated factor 8	<i>Dcaf8</i>													-3,2	2,0	65,9	1	-	1
Q9DBX2	Phosducin-like protein	<i>Pdcl</i>													-3,2	8,0	34,3	1	-	1
Q8BNU0-1	Isoform 1 of Armadillo repeat-containing protein 6	<i>Armc6</i>													-5,7	3,0	50,6	1	-	1
Q9QXE0	2-hydroxyacyl-CoA lyase 1	<i>Hacl1</i>													-4,0	2,0	63,5	1	-	1
Q91W67	Ubiquitin-like protein 7	<i>Ubl7</i>													-3,9	3,0	40,3	1	-	1
Q8BFQ4	WD repeat-containing protein 82	<i>Wdr82</i>													-3,6	4,0	35,0	1	-	1
Q9CQZ5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 6	<i>Ndufa6</i>													-4,1	12,0	15,2	1	-	1
Q9DCJ1	Target of rapamycin complex subunit LST8	<i>Mlst8</i>													-4,6	3,0	35,7	1	-	1
Q6ZQ88	Lysine-specific histone demethylase 1A	<i>Kdm1a</i>													-7,5	1,0	92,7	1	-	1
Q5U4D9	THO complex subunit 6 homolog	<i>Thoc6</i>													-4,3	4,0	37,2	1	-	1
P68433	Histone H3.1	<i>Hist1h3a</i>													-2,7	6,0	15,3	3	-	1
Q9D7X2	Putative uncharacterized protein	<i>2210016F16Rik</i>													-3,0	7,0	18,6	1	-	1
B8JJ66	MCG141136, isoform CRA_a	<i>2310061104Rik</i>													-2,8	2,0	26,6	1	-	1
D3Z494	MCG142264, isoform CRA_a	<i>Akr1b10</i>													-5,8	8,0	32,6	2	-	2
P61211	ADP-ribosylation factor-like protein 1	<i>Arl1</i>													-2,6	6,0	20,3	1	-	1
Q4KL14	Trafficking protein particle complex subunit 3-like protein	<i>Bet3l</i>													-2,7	2,0	20,7	1	-	1
Q9WUM3	Coronin-1B	<i>Coro1b</i>													-2,8	2,0	53,8	1	-	1

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
P47941	Crk-like protein	<i>Crkl</i>													-3,0	5,0	33,7	1	-	1
Q9JH17	Exosome complex exonuclease RRP45	<i>Exosc9</i>													-2,7	2,0	48,8	2	-	1
Q9D281	Protein Noxp20	<i>Fam114a1</i>													-2,8	3,0	60,9	1	-	1
P23780	Beta-galactosidase	<i>Glb1</i>													-2,5	1,0	73,0	1	-	1
A2AQR0	Glycerol phosphate dehydrogenase 2, mitochondrial	<i>Gpd2</i>													-4,9	3,0	82,7	2	-	2
P12265	Beta-glucuronidase	<i>Gusb</i>													-2,8	1,0	74,1	1	-	1
Q9Z2L6	Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1	<i>Minpp1</i>													-2,6	2,0	54,4	1	-	1
Q91ZG2	Metallophosphoesterase domain-containing protein 1	<i>Mppd1</i>													-2,9	3,0	37,1	1	-	1
Q9R060	Cytosolic Fe-S cluster assembly factor NUBP1	<i>Nubp1</i>													-2,5	6,0	34,0	1	-	1
Q35386	Phytanoyl-CoA dioxygenase, peroxisomal	<i>Phyh</i>													-2,8	3,0	38,5	2	-	1
Q9D1G2-1	Isoform 1 of Phosphomevalonate kinase	<i>Pmvk</i>													-2,8	5,0	21,8	2	-	1
P48453-1	Isoform 2 of Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit beta isoform	<i>Ppp3cb</i>													-5,8	2,0	59,0	1	-	1
Q8BIW1	Protein prune homolog	<i>Prune</i>													-2,8	1,0	50,1	1	-	1
P51410	60S ribosomal protein L9	<i>Rpl9</i>													-2,8	5,0	21,8	1	-	1
Q8C650-1	Isoform 1 of Septin-10	<i>Sept10</i>													-2,8	2,0	52,3	1	-	1
P63166	Small ubiquitin-related modifier 1	<i>Sumo1</i>													-2,7	15,0	11,5	1	-	1
Q8K0G5	Protein TSSC1	<i>Tssc1</i>													-2,7	3,0	43,1	1	-	1
P83887	Tubulin gamma-1 chain	<i>Tubg1</i>													-2,6	2,0	51,0	1	-	1
Q91XD6	Vacuolar protein-sorting-associated protein 36	<i>Vps36</i>													-2,6	3,0	43,6	1	-	1
P53657-1	Isoform R-type of Pyruvate kinase isozymes R/L	<i>Pklr</i>													-5,5	2,0	62,2	21	1	2
P37804	Transgelin	<i>Tagln</i>													-5,5	6,0	22,5	1	-	1
P60710	Actin, cytoplasmic 1	<i>Actb</i>	-110,6	53,0	41,6	506	2	21	-134,7	63,0	41,6	993	2	24						
P28352	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase	<i>Apex1</i>	-12,5	10,0	35,4	5	-	2	-11,4	10,0	35,4	2	-	2						
P68368	Tubulin alpha-4A chain	<i>Tuba4a</i>	-89,6	44,0	49,8	240	4	16	-89,2	42,0	49,8	432	5	16						
O35226-1	Isoform Rpn10A of 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4	<i>Psm4</i>	-18,0	17,0	40,6	17	-	5	-25,1	26,0	40,6	23	2	7						
Q8BKCS-1	Isoform 1 of Importin-5	<i>Ipo5</i>	-3,2	1,0	123,4	2	-	1	-39,0	16,0	123,4	26	-	13						
Q9WTX5	S-phase kinase-associated protein 1	<i>Skp1</i>	-7,9	12,0	18,6	6	-	2	-20,1	24,0	18,6	17	-	6						
Q9JH6	Alcohol dehydrogenase [NADP+]	<i>Akr1a1</i>	-11,0	8,0	36,5	5	-	2	-12,5	14,0	36,5	8	-	3						
Q9CWM4	Prefoldin subunit 1	<i>Pfdn1</i>	-3,3	8,0	14,2	3	-	1	-6,3	17,0	14,2	7	-	2						
E9Q616	Uncharacterized protein	<i>Ahnak</i>	-6,1	0,0	603,5	3	-	1	-18,8	1,0	603,5	9	-	5						
Q91WJ8-1	Isoform 1 of Far upstream element-binding protein 1	<i>Fubp1</i>	-16,7	13,0	68,4	7	-	6	-4,6	3,0	68,4	3	-	2						
Q8BP80	Mps one binder kinase activator-like 1A	<i>Mobk1la</i>	-3,4	5,0	25,0	3	-	1	-3,1	5,0	25,0	5	-	1						
Q91Y10	Argininosuccinate lyase	<i>Asl</i>	-10,0	7,0	51,6	5	-	3	-6,7	4,0	51,6	4	-	2						
Q3ULI3	Putative uncharacterized protein	<i>Psm49</i>	-8,2	9,0	25,3	3	-	2	-7,8	10,0	25,3	6	-	2						
Q9CX56	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 8	<i>Psm48</i>	-3,5	4,0	39,8	1	-	1	-6,1	7,0	39,8	6	-	2						
Q9WV98	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim9	<i>Timm9</i>	-7,4	42,0	10,3	5	-	3	-4,2	12,0	10,3	2	-	1						
Q8VEJ4	Notchless protein homolog 1	<i>Nle1</i>	-3,4	3,0	53,0	1	-	1	-6,7	3,0	53,0	6	-	1						
Q9JHU4	Cytoplasmic dynein 1 heavy chain 1	<i>Dync1h1</i>	-2,7	0,0	531,3	1	-	1	-14,8	1,0	531,3	6	-	4						
P46460	Vesicle-fusing ATPase	<i>Nsf</i>	-12,1	4,0	82,5	3	-	3	-6,3	1,0	82,5	3	-	1						
Q9CXW2	28S ribosomal protein S22, mitochondrial	<i>Mrps22</i>	-2,5	3,0	41,1	2	-	1	-3,6	3,0	41,1	3	-	1						

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
P61759	Prefoldin subunit 3	Vbp1	-3,3	4,0	22,3	1	-	1	-4,1	10,0	22,3	3	-	2						
O35286	Putative pre-mRNA-splicing factor A1P-dependent RNA helicase DHX15	Dhx15	-7,7	5,0	90,8	3	-	3	-3,2	1,0	90,8	2	-	1						
Q8BH93	MAPK-interacting and spindle-stabilizing protein-like	Mapk1ip1l	-4,7	10,0	23,8	3	-	1	-4,5	10,0	23,8	3	-	1						
Q80YV2-1	Isoform 1 of Nuclear-interacting partner of ALK	Zc3hc1	-4,5	2,0	55,1	2	-	1	-7,8	2,0	55,1	3	-	1						
Q60598	Src substrate cortactin	Cttn	-7,6	4,0	61,1	2	-	2	-5,4	4,0	61,1	2	-	2						
Q99J36	THUMP domain-containing protein 1	Thumpd1	-10,6	8,0	38,8	2	-	2	-4,9	8,0	38,8	3	-	2						
Q3ULL9	Putative uncharacterized protein	Acad9	-9,9	5,0	68,6	4	-	3	-4,2	2,0	68,6	1	-	1						
Q923D4	Splicing factor 3B subunit 5	Sf3b5	-3,4	17,0	10,0	1	-	1	-3,9	17,0	10,0	4	-	1						
Q80X50-1	Isoform 1 of Ubiquitin-associated protein 2-like	Ubap2l	-3,2	1,0	116,6	1	-	1	-10,0	2,0	116,6	4	-	2						
Q8VDF2	E3 ubiquitin-protein ligase UHRF1	Uhrf1	-4,0	1,0	88,1	3	-	1	-4,4	3,0	88,1	2	-	2						
Q62419	Endophilin-A2	Sh3gl1	-3,4	3,0	41,4	2	-	1	-7,4	7,0	41,4	2	-	2						
Q80VJ3	Deoxyribonucleoside 5'-monophosphate N-glycosidase	Rcl	-4,5	8,0	18,9	1	-	1	-4,9	8,0	18,9	4	-	1						
Q9CZU3	Superkiller viralicidic activity 2-like 2	Skiv2l2	-3,2	1,0	117,4	2	-	1	-8,3	1,0	117,4	2	-	1						
Q8CIN4	Serine/threonine-protein kinase PAK 2	Pak2	-3,5	2,0	57,8	1	-	1	-11,0	6,0	57,8	3	-	2						
B2RQC6	Carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamylase, and dihydroorotase	Cad	-4,0	0,0	242,9	1	-	1	-10,2	2,0	242,9	3	-	3						
Q9JIH2	Nuclear pore complex protein Nup50	Nup50	-3,7	2,0	49,4	1	-	1	-5,7	5,0	49,4	3	-	2						
Q9DBG3-1	Isoform 1 of AP-2 complex subunit beta	Ap2b1	-2,6	1,0	104,4	1	-	1	-6,4	2,0	104,4	3	-	2						
Q9DCC8	Mitochondrial import receptor subunit TOM20 homolog	Tomm20	-3,0	8,0	16,2	1	-	1	-3,4	8,0	16,2	2	-	1						
Q9R1MS-1	Isoform 1 of NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 5	Nlrp5	-3,5	1,0	131,1	2	-	1	-2,8	1,0	131,1	1	-	1						
Q9Z1Q9	Valyl-tRNA synthetase	Vars	-3,5	0,0	140,0	1	-	1	-4,9	0,0	140,0	2	-	1						
Q8VE70	Programmed cell death protein 10	Pdcd10	-3,1	5,0	24,6	1	-	1	-3,4	7,0	24,6	1	-	1						
Q8BFY9-1	Isoform 1 of Transportin-1	Tnpo1	-2,8	1,0	102,2	1	-	1	-4,4	1,0	102,2	2	-	1						
Q8BTI8-1	Isoform 1 of Serine/arginine repetitive matrix protein 2	Srrm2	-3,7	0,0	294,3	2	-	1	-4,3	0,0	294,3	1	-	1						
P40336-1	Isoform 1 of Vacuolar protein sorting-associated protein 26A	Vps26a	-5,9	7,0	38,0	2	-	2	-2,8	3,0	38,0	1	-	1						
Q8R3C0	Mini-chromosome maintenance complex-binding protein	Mcmbp	-2,6	1,0	72,7	1	-	1	-6,5	4,0	72,7	2	-	2						
Q8JZX4	Splicing factor 45	Rbm17	-7,3	3,0	45,2	1	-	1	-5,2	3,0	45,2	1	-	1						
P97929	Breast cancer type 2 susceptibility protein homolog	Brca2	-3,4	0,0	370,2	1	-	1	-3,8	0,0	370,2	1	-	1						
Q9CWK3	CD2 antigen cytoplasmic tail-binding protein 2	Cd2bp2	-3,0	4,0	37,6	1	-	1	-5,7	4,0	37,6	1	-	1						
Q8BG87-1	Isoform 1 of Enolase-phosphatase E1	Enoph1	-4,2	4,0	28,5	1	-	1	-2,8	4,0	28,5	1	-	1						
P70353	Nuclear transcription factor Y subunit gamma	Nfyc	-2,6	3,0	37,1	1	-	1	-4,4	3,0	37,1	1	-	1						
P63037	DnaJ homolog subfamily A member 1	Dnaja1							-8,3	6,0	44,7	8	-	2						
Q8BW50	Putative uncharacterized protein	Eef1d							-15,4	33,0	13,2	17	1	4						
D3YYZ2	MCG1031578	Gm5239							-12,2	35,0	14,0	19	1	4						
P70696	Histone H2B type 1-A	Hist1h2ba							-4,5	20,0	14,2	10	1	2						
E9QPE7	Uncharacterized protein	Myh11							-15,3	3,0	223,0	8	1	6						
Q61656	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX5	Ddx5							-20,6	11,0	69,2	21	2	7						
Q922D8	C-1-tetrahydrofolate synthase, cytoplasmic	Mthfd1							-30,4	8,0	101,1	31	-	6						
Q78PY7	Staphylococcal nuclease domain-containing protein 1	Snd1							-27,4	11,0	101,9	17	-	8						
P62908	40S ribosomal protein S3	Rps3							-21,3	26,0	26,6	16	-	5						
Q8R5L1	Complement component 1, q subcomponent binding protein	C1qbp							-8,7	7,0	30,9	13	-	1						

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9WTP6-1	Isoform 1 of Adenylate kinase 2, mitochondrial	Ak2							-13,4	19,0	26,4	7	-	4						
P67984	60S ribosomal protein L22	Rpl22							-13,1	30,0	14,7	8	-	3						
P05201	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	Got1							-11,5	11,0	46,1	7	1	4						
Q3UJH8	Aspartate aminotransferase	Got1							-10,8	11,0	46,1	7	1	4						
Q9Z110-1	Isoform Long of Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase	Aldh18a1							-14,4	7,0	87,1	8	-	5						
P19157	Glutathione S-transferase P 1	Gstp1							-9,8	12,0	23,5	7	-	2						
P06728	Apolipoprotein A-IV	Apoa4							-13,1	12,0	44,9	7	-	4						
Q99MD9-1	Isoform 1 of Nuclear autoantigenic sperm protein	Nasp							-11,7	7,0	83,8	7	-	3						
O09131	Glutathione S-transferase omega-1	Gsto1							-10,3	13,0	27,4	6	-	3						
Q61024	Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing]	Asns							-9,0	4,0	64,1	6	-	2						
Q8BKZ9	Pyruvate dehydrogenase protein X component, mitochondrial	Pdhx							-5,3	9,0	53,9	4	-	3						
O08797	SPI6	Serpinb9							-7,8	8,0	42,1	6	-	2						
P62305	Small nuclear ribonucleoprotein E	Snrpe							-7,9	24,0	10,7	6	-	2						
P62858	40S ribosomal protein S28	Rps28							-3,2	17,0	7,8	6	-	1						
Q80YQ1	Thrombospondin 1	Thbs1							-7,7	3,0	129,5	6	-	3						
P97351	40S ribosomal protein S3a	Rps3a							-3,4	4,0	29,8	5	-	1						
P51881	ADP/ATP translocase 2	Slc25a5							-15,0	15,0	32,8	4	-	4						
P23116	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A	Eif3a							-13,1	3,0	161,7	5	-	4						
P43406	Integrin alpha-V	Itgav							-12,3	4,0	115,1	5	-	4						
Q8JZY2	COMM domain-containing protein 10	Comm10							-6,2	13,0	22,7	4	-	2						
Q8VDJ3	Vigilin	Hdlbp							-12,1	2,0	141,5	5	-	2						
P29341	Polyadenylate-binding protein 1	Pabpc1							-10,1	6,0	70,5	5	-	3						
P46656	Adrenodoxin, mitochondrial	Fdx1							-3,2	4,0	20,0	4	-	1						
Q64514-1	Isoform Long of Tripeptidyl-peptidase 2	Tpp2							-9,0	2,0	139,7	4	-	3						
P62334	26S protease regulatory subunit 10B	Psmc6							-12,3	14,0	44,1	4	-	4						
Q9CQR2	40S ribosomal protein S21	Rps21							-6,8	28,0	9,1	4	-	2						
Q9WV55	Vesicle-associated membrane protein-associated protein A	Vapa							-11,0	16,0	27,8	4	-	3						
P47856-1	Isoform 1 of Glucosamine--fructose-6-phosphate aminotransferase [isomerizine] 1	Gfpt1							-9,5	3,0	78,4	2	-	2						
Q99J62	Replication factor C subunit 4	Rfc4							-6,9	9,0	39,8	3	-	3						
Q923G2	DNA-directed RNA polymerases I, II, and III subunit RPABC3	Polr2h							-9,3	17,0	17,1	3	-	2						
P07607	Thymidylate synthase	Tyms							-4,8	3,0	34,9	2	-	1						
P11440	Cyclin-dependent kinase 1	Cdk1							-2,8	1,0	102,2	1	-	1						
O35841	Apoptosis inhibitor 5	Api5							-3,7	2,0	56,6	1	-	1						
P97478	Ubiquinone biosynthesis protein COQ7 homolog	Coq7							-3,6	5,0	23,9	2	-	1						
Q9DCW4	Electron transfer flavoprotein subunit beta	Etfb							-3,7	8,0	27,5	3	-	2						
Q8BIQ5-1	Isoform 1 of Cleavage stimulation factor subunit 2	Cstf2							-3,7	2,0	61,2	2	-	1						
O08804	NK13	Serpinb6b							-9,6	13,0	42,4	3	-	3						
E9QNX7	Uncharacterized protein	Atp4a							-4,8	3,0	113,9	2	1	2						
Q8VDN2	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1	Atp1a1							-6,2	2,0	112,8	2	1	2						
Q9CQ65	S-methyl-5'-thioadenosine phosphorylase	Mtap							-9,1	12,0	31,0	3	-	2						

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9Z247	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP9	<i>Fkbp9</i>							-3,1	2,0	62,9	3	-	1						
P30285	Cyclin-dependent kinase 4	<i>Cdk4</i>							-4,7	5,0	33,6	3	-	1						
Q99J77	N-acetylneuraminic acid synthase (Sialic acid synthase)	<i>Nans</i>							-5,7	8,0	39,9	3	-	2						
Q99K85	Phosphoserine aminotransferase	<i>Psat1</i>							-5,1	6,0	40,4	3	-	2						
Q9CQL7	MORF4 family-associated protein 1	<i>Mrfap1</i>							-10,2	26,0	14,1	3	-	2						
P62204	Calmodulin	<i>Calm1</i>							-5,0	8,0	16,8	3	-	1						
Q61245-1	Isoform Long of Collagen alpha-1(XI) chain	<i>Col11a1</i>							-3,4	0,0	180,7	2	-	1						
P63325	40S ribosomal protein S10	<i>Rps10</i>							-6,0	13,0	18,8	2	-	2						
Q8JZV7	Putative N-acetylglucosamine-6-phosphate deacetylase	<i>Amdhd2</i>							-3,4	3,0	43,4	1	-	1						
Q9D1E6	Tubulin-folding cofactor B	<i>Tbcb</i>							-4,2	4,0	27,3	1	-	1						
Q92580-1	Isoform 1 of PRKC apoptosis WT1 regulator protein	<i>Pawr</i>							-8,9	4,0	35,8	2	-	1						
Q60936-1	Isoform 1 of Chaperone activity of bc1 complex-like, mitochondrial	<i>Adck3</i>							-5,0	1,0	71,6	2	-	1						
Q62418-1	Isoform 1 of Drebrin-like protein	<i>Dbnl</i>							-5,7	7,0	48,6	2	-	2						
P11103-1	Isoform 1 of Poly [ADP-ribose] polymerase 1	<i>Parp1</i>							-7,0	2,0	112,9	2	-	2						
Q8VE88-1	Isoform 1 of Protein FAM114A2	<i>Fam114a2</i>							-6,9	3,0	53,9	1	-	1						
Q9R1E0	Forkhead box protein O1	<i>Foxo1</i>							-6,3	4,0	69,4	2	-	2						
P54823	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX6	<i>Ddx6</i>							-3,0	4,0	54,1	2	-	2						
Q3UHK6-1	Isoform 1 of Teneurin-4	<i>Odz4</i>							-5,0	0,0	308,0	2	-	1						
Q91VS7	Microsomal glutathione S-transferase 1	<i>Mgst1</i>							-4,8	7,0	17,5	2	-	1						
Q3UKJ7-1	Isoform 1 of WD40 repeat-containing protein SMU1	<i>Smu1</i>							-4,7	2,0	57,4	2	-	1						
Q99LD9	Translation initiation factor eIF-2B subunit beta	<i>Eif2b2</i>							-4,3	4,0	38,8	2	-	1						
Q9WV32	Actin-related protein 2/3 complex subunit 1B	<i>Arpc1b</i>							-4,0	7,0	18,8	2	-	1						
Q9CQ89-1	Isoform 1 of Protein CutA	<i>Cuta</i>							-4,0	7,0	18,8	2	-	1						
P56959	RNA-binding protein FUS	<i>Fus</i>							-3,6	3,0	52,6	2	-	1						
Q3UX61	N-alpha-acetyltransferase 11, NatA catalytic subunit	<i>Naa11</i>							-8,6	14,0	24,6	2	-	2						
Q3UGA8	Amidophosphoribosyltransferase	<i>Ppat</i>							-7,2	4,0	61,9	2	-	2						
P08122	Collagen alpha-2(IV) chain	<i>Col4a2</i>							-3,7	1,0	167,1	2	-	2						
Q8C2Q3-1	Isoform 1 of RNA-binding protein 14	<i>Rbm14</i>							-7,1	3,0	69,3	2	-	2						
Q35381	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member A	<i>Anp32a</i>							-3,9	4,0	28,4	2	-	1						
Q91V12-2	Isoform A of Cytosolic acyl coenzyme A thioester hydrolase	<i>Acot7</i>							-3,6	4,0	37,4	2	-	1						
Q80UM7	Mannosyl-oligosaccharide glucosidase	<i>Mogs</i>							-4,3	1,0	91,7	2	-	1						
Q8BMJ2	Leucyl-tRNA synthetase, cytoplasmic	<i>Lars</i>							-4,4	2,0	134,0	2	-	2						
Q99K01-1	Isoform 1 of Pyridoxal-dependent decarboxylase domain-containing protein 1	<i>Pdxdc1</i>							-8,2	3,0	87,2	2	-	2						
Q9CZ04-1	Isoform 1 of COP9 signalosome complex subunit 7a	<i>Cops7a</i>							-4,2	5,0	30,1	1	-	1						
Q6ZWU9	40S ribosomal protein S27	<i>Rps27</i>							-5,1	15,0	9,4	2	-	1						
P62889	60S ribosomal protein L30	<i>Rpl30</i>							-6,3	24,0	12,7	2	-	2						
P62830	60S ribosomal protein L23	<i>Rpl23</i>							-6,8	10,0	14,8	2	-	1						
P03930	ATP synthase protein 8	<i>Mtstp8</i>							-3,8	14,0	7,7	2	-	1						
Q8CCF0-1	Isoform 1 of U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein Prp31	<i>Prpf31</i>							-3,1	2,0	55,3	2	-	1						
P60867	40S ribosomal protein S20	<i>Rps20</i>							-5,3	19,0	13,3	2	-	2						

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Specif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q9QZE5	Coatomer subunit gamma	<i>Copg</i>							-5,3	4,0	97,3	2	-	2						
P48758	Carbonyl reductase [NADPH] 1	<i>Cbr1</i>							-3,3	5,0	30,5	2	-	1						
Q78JW9	Ubiquitin domain-containing protein UBFD1	<i>Ubfd1</i>							-8,9	8,0	40,0	2	-	2						
Q8BP27-1	Isotorm 1 of Swi5-dependent recombination UNA repair protein 1 homologue	<i>Meir5</i>							-5,3	3,0	35,1	1	-	1						
Q91XV3	Brain acid soluble protein 1	<i>Basp1</i>							-3,4	9,0	22,0	1	-	1						
Q9D600	DNA replication complex GINS protein PSF2	<i>Gins2</i>							-3,7	7,0	21,1	1	-	1						
Q9D7E4	UPF0449 protein C19orf25 homologue								-3,8	11,0	12,0	1	-	1						
P10711-1	Isoform 2 of Transcription elongation factor A protein 1	<i>Tcea1</i>							-3,3	3,0	33,8	1	-	1						
Q91WE2	Protein FAM192A	<i>Fam192a</i>							-4,9	4,0	28,6	1	-	1						
Q9D0S9	Histidine triad nucleotide-binding protein 2, mitochondrial	<i>Hint2</i>							-3,6	7,0	17,2	1	-	1						
P11157	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit M2	<i>Rrm2</i>							-3,0	2,0	45,0	1	-	1						
Q8K1Z0	Ubiquinone biosynthesis protein COQ9, mitochondrial	<i>Coq9</i>							-4,6	6,0	35,0	1	-	1						
Q9D8Y0	EF-hand domain-containing protein D2	<i>Efhd2</i>							-3,4	5,0	26,7	1	-	1						
Q9CRB9	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain-containing protein 3, mitochondrial	<i>Chchd3</i>							-3,2	6,0	26,2	1	-	1						
P10852	4F2 cell-surface antigen heavy chain	<i>Slc3a2</i>							-3,1	3,0	58,2	1	-	1						
Q8R0Y6	Aldehyde dehydrogenase family 1 member L1	<i>Aldh11</i>							-3,6	1,0	98,5	1	-	1						
Q9D0B6-1	Isotorm 1 of Polysaccharide biosynthesis domain-containing protein 1	<i>Pbdc1</i>							-4,1	5,0	22,1	1	-	1						
P47791-1	Isoform Mitochondrial of Glutathione reductase, mitochondrial	<i>Gsr</i>							-5,2	2,0	53,5	1	-	1						
Q61074	Protein phosphatase 1G	<i>Ppm1g</i>							-3,4	2,0	58,6	1	-	1						
P03958	Adenosine deaminase	<i>Ada</i>							-3,7	3,0	39,9	1	-	1						
P97461	40S ribosomal protein S5	<i>Rps5</i>							-4,4	8,0	22,8	1	-	1						
Q9Z2V4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase, cytosolic [GTP]	<i>Pck1</i>							-7,0	2,0	69,2	1	-	1						
Q9CR27	WASH complex subunit CCDC53	<i>Ccdc53</i>							-3,2	6,0	21,0	1	-	1						
Q6P9Z1	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily D member 3	<i>Smarcd3</i>							-5,8	2,0	54,9	1	-	1						
O54946-1	Isoform A of DnaJ homolog subfamily B member 6	<i>Dnajb6</i>							-4,3	3,0	39,7	1	-	1						
Q64261	Cyclin-dependent kinase 6	<i>Cdk6</i>							-4,8	4,0	36,9	1	-	1						
Q9CXA2	Probable proline racemase	<i>L3hypdh</i>							-3,2	3,0	37,7	1	-	1						
Q8VCG1	Deoxyuridine triphosphatase	<i>Dut</i>							-3,9	5,0	21,2	1	-	1						
Q64331	Myosin-VI	<i>Myo6</i>							-4,2	1,0	146,2	1	-	1						
P62264	40S ribosomal protein S14	<i>Rps14</i>							-5,0	8,0	16,2	1	-	1						
Q9R1J0	Sterol-4-alpha-carboxylate 3-dehydrogenase, decarboxylating	<i>Nsdhl</i>							-3,7	3,0	40,6	1	-	1						
Q8BXL7	ADP-ribosylation factor-related protein 1	<i>Arfrp1</i>							-3,7	4,0	22,6	1	-	1						
Q9Z1X4-1	Isoform 1 of Interleukin enhancer-binding factor 3	<i>Ilf3</i>							-3,5	1,0	95,8	1	-	1						
P27546-1	Isoform 1 of Microtubule-associated protein 4	<i>Map4</i>							-3,9	1,0	117,2	1	-	1						
Q8R010	Aminoacyl tRNA synthase complex-interacting multifunctional protein 2	<i>Aimp2</i>							-6,9	7,0	35,3	1	-	1						
Q6ZPJ3	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 O	<i>Ube2o</i>							-3,6	1,0	140,6	1	-	1						
Q3UQ44	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP2	<i>Iqgap2</i>							-3,3	0,0	180,3	1	-	1						
Q9Z2Q4	Pyroline-5-carboxylate reductase 2	<i>Pycr2</i>							-3,2	4,0	33,6	1	-	1						
Q61543	Golgi apparatus protein 1	<i>Glg1</i>							-4,3	0,0	133,5	1	-	1						
P63005-1	Isoform 1 of Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit alpha	<i>Pafah1b1</i>							-3,6	3,0	46,5	1	-	1						

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q8K0D5	Elongation factor G, mitochondrial	<i>Gfm1</i>							-3,3	1,0	83,4	1	-	1						
P61082	NEDD8-conjugating enzyme Ubc12	<i>Ube2m</i>							-3,0	5,0	20,8	1	-	1						
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	<i>Cox6b1</i>							-3,1	12,0	10,0	1	-	1						
Q8VE37	Regulator of chromosome condensation	<i>Rcc1</i>							-4,4	3,0	44,8	1	-	1						
Q80WP0	Killer cell lectin-like receptor family E member 1	<i>Klre1</i>							-3,4	4,0	26,2	1	-	1						
O09061	Proteasome subunit beta type-1	<i>Psmb1</i>							-4,2	5,0	26,3	1	-	1						
Q9R0Q7	Prostaglandin E synthase 3	<i>Ptges3</i>							-3,3	8,0	18,6	1	-	1						
Q3TA75	Putative uncharacterized protein (Fragment)	<i>Fxr2</i>							-4,6	1,0	70,4	1	-	1						
Q9CQA3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	<i>Sdhb</i>							-3,9	4,0	31,7	1	-	1						
POCOS6	Histone H2A.Z	<i>H2afz</i>							-4,0	10,0	13,5	1	-	1						
Q9CR51	V-type proton ATPase subunit G 1	<i>Atp6v1g1</i>							-4,5	16,0	13,6	1	-	1						
Q5U5M8	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 3	<i>Bloc1s3</i>							-4,4	8,0	20,3	1	-	1						
P00375	Dihydrofolate reductase	<i>Dhfr</i>							-3,7	15,0	8,2	1	-	1						
Q06185	ATP synthase subunit e, mitochondrial	<i>Atp5i</i>							-3,7	15,0	8,2	1	-	1						
A2RSX9	Arfp1 protein	<i>Arfp1</i>							-5,4	8,0	38,3	2	-	2						
B8JJI2	Novel protein (A930001N09Rik)	<i>A930001N09Rik</i>							-2,6	1,0	74,4	1	-	1						
D3Z482	Uncharacterized protein	<i>Ankrd26</i>							-2,9	0,0	191,9	1	-	1						
E9PZW0	Uncharacterized protein	<i>Dsp</i>							-2,6	0,0	261,1	1	-	1						
O55143-1	Isoform SERCA2B of Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2	<i>Atp2a2</i>							-2,5	1,0	114,7	1	-	1						
P24288	Branched-chain-amino-acid aminotransferase, cytosolic	<i>Bcat1</i>							-5,2	5,0	42,7	2	-	2						
P45878	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2	<i>Fkbp2</i>							-3,0	8,0	15,3	1	-	1						
P53996-1	Isoform 1 of Cellular nucleic acid-binding protein	<i>Cnbp</i>							-2,6	8,0	19,5	1	-	1						
P59999	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	<i>Arpc4</i>							-3,0	6,0	19,6	2	-	1						
Q08024-1	Isoform 1 of Core-binding factor subunit beta	<i>Cbfb</i>							-2,7	9,0	21,9	1	-	1						
Q3U487-1	Isoform 1 of E3 ubiquitin-protein ligase HECTD3	<i>Hectd3</i>							-2,6	1,0	97,2	1	-	1						
Q3UAI4	Putative uncharacterized protein	<i>Sf3b2</i>							-4,9	3,0	98,0	2	-	2						
Q3UWS5	Novel gene (E330009P21Rik)	<i>Fbxw21</i>							-5,0	5,0	50,3	2	-	2						
Q55WU9-1	Isoform 1 of Acetyl-CoA carboxylase 1	<i>Acaca</i>							-4,9	1,0	264,9	2	-	2						
Q61545	RNA-binding protein EWS	<i>Ewsr1</i>							-2,7	2,0	68,3	1	-	1						
Q62425	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 4	<i>Ndufa4</i>							-2,9	14,0	9,2	2	-	1						
Q6ZWQ0-1	Isoform 1 of Nesprin-2	<i>Syne2</i>							-2,7	0,0	781,8	1	-	1						
Q80VJ2-1	Isoform 1 of Steroid receptor RNA activator 1	<i>Sra1</i>							-4,7	12,0	24,2	2	-	2						
Q8BG75	Alanine aminotransferase 2	<i>Gpt2</i>							-2,8	2,0	57,8	1	-	1						
Q8C5P5-1	Isoform 1 of 5'-nucleotidase domain-containing protein 1	<i>Nt5dc1</i>							-2,6	2,0	53,0	1	-	1						
Q8CGY8-1	Isoform 1 of UDP-N-acetylglucosamine-peptide N-acetylglucosaminyltransferase 110 kDa subunit	<i>Ogt</i>							-2,9	1,0	116,8	2	-	1						
Q8CH25-1	Isoform 1 of SAFB-like transcription modulator	<i>Sitm</i>							-2,5	1,0	116,7	1	-	1						
Q8K354	Carbonyl reductase 3	<i>Cbr3</i>							-2,9	3,0	30,9	1	-	1						
Q8R2Y8	Peptidyl-tRNA hydrolase 2, mitochondrial	<i>Ptrh2</i>							-2,7	8,0	19,4	1	-	1						
Q8VCH0	3-ketoacyl-CoA thiolase B, peroxisomal	<i>Acaa1b</i>							-4,6	7,0	43,9	2	-	2						
Q91YN9	BAG family molecular chaperone regulator 2	<i>Bag2</i>							-3,0	5,0	23,4	1	-	1						

			IS					RMS					FA							
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Pep Spécif Spectres	Pep Uniq	Pep Uniq
Q91YP3	Putative deoxyribose-phosphate aldolase	<i>Dera</i>							-2,7	4,0	34,9	1	-	1						
Q921W4-1	Isoform 1 of Quinone oxidoreductase-like protein 1	<i>Cryz11</i>							-2,7	3,0	38,6	1	-	1						
Q9CY50	Translocon-associated protein subunit alpha	<i>Ssr1</i>							-2,7	3,0	32,0	1	-	1						
Q9CZ28	Vacuolar-sorting protein SNF8	<i>Snf8</i>							-2,9	4,0	28,8	1	-	1						
Q9D0R8	Protein LSM12 homolog	<i>Lsm12</i>							-2,6	6,0	21,6	1	-	1						
Q9D7E3	Ovarian cancer-associated gene 2 protein homolog	<i>Ovca2</i>							-2,7	5,0	24,2	1	-	1						
Q9JK48-1	Isoform 1 of Endophilin-B1	<i>Sh3glb1</i>							-2,8	3,0	40,7	1	-	1						
Q9JKP7	DNA polymerase epsilon subunit 3	<i>Pole3</i>							-2,8	7,0	16,5	1	-	1						
Q9JLM9	Growth factor receptor-bound protein 14	<i>Grb14</i>							-2,9	2,0	60,4	1	-	1						
Q9WU84	Copper chaperone for superoxide dismutase	<i>Ccs</i>							-2,9	4,0	28,8	1	-	1						
Q9Z206-2	Isoform 2 of Neuroepithelial cell-transforming gene 1 protein	<i>Net1</i>							-2,6	2,0	61,6	1	-	1						
Q9Z2R6	Protein unc-119 homolog A	<i>Unc119</i>							-2,9	5,0	26,9	1	-	1						
O08738	Caspase-6	<i>Casp6</i>	-2,6	3,0	31,5	1	-	1												
O55032	SH2/SH3 adaptor protein	<i>Nck1</i>	-2,8	3,0	42,6	1	-	1												
Q61206	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit beta	<i>Pafah1b2</i>	-2,8	9,0	25,5	1	-	1												
Q811L6-1	Isoform 1 of Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 4	<i>Mast4</i>	-2,6	0,0	283,7	1	-	1												
Q99P31	Hsp70-binding protein 1	<i>Hspbp1</i>	-2,9	3,0	39,1	1	-	1												
Q8B8GH2	Sorting and assembly machinery component 50 homolog	<i>Samm50</i>	-4,3	4,0	51,7	2	-	2												
Q8C599	Putative uncharacterized protein	<i>Celsr2</i>	-2,8	3,0	17,1	1	-	1												
Q8CE50-1	Isoform 1 of N-alpha-acetyltransferase 30, NatC catalytic subunit	<i>Naa30</i>	-5,0	8,0	39,3	2	-	2												
Q8HW98	IgLON family member 5	<i>Igln5</i>	-2,6	2,0	36,7	1	-	1												
Q9R0U0-1	Isoform 1 of Serine/arginine-rich splicing factor 10	<i>Srsf10</i>	-2,7	4,0	31,2	1	-	1												
Q922F4	Tubulin beta-6 chain	<i>Tubb6</i>	-64,1	35,0	50,0	143	2	14												
Q9CWU5-1	Isoform 1 of Protein Filia	<i>Khdc3</i>	-51,1	29,0	47,9	77	1	10												
P26041	Moesin	<i>Msn</i>	-16,8	10,0	67,6	14	2	5												
Q9D5J8	Putative uncharacterized protein	<i>Gstm6</i>	-10,7	10,0	27,2	5	-	2												
Q3UDK4	Putative uncharacterized protein	<i>Anxa6</i>	-8,9	7,0	75,8	4	-	4												
P97379-1	Isoform A of Ras GTPase-activating protein-binding protein 2	<i>G3bp2</i>	-10,1	5,0	54,0	7	1	3												
Q61233	Plastin-2	<i>Lcp1</i>	-23,5	10,0	70,0	16	-	5												
Q63932	Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 2	<i>Map2k2</i>	-5,1	6,0	44,3	2	1	2												
P02104	Hemoglobin subunit epsilon-Y2	<i>Hbb-y</i>	-6,7	15,0	16,1	9	1	2												
E9Q7L0	Uncharacterized protein	<i>Ogdhl</i>	-15,0	5,0	116,4	4	3	4												
Q9D964	Glycine amidinotransferase, mitochondrial	<i>Gatm</i>	-16,4	14,0	48,2	12	-	4												
Q8R0X9	Serine hydroxymethyltransferase	<i>Shmt1</i>	-11,3	7,0	52,5	4	-	3												
P27106	Muellerian-inhibiting factor	<i>Amh</i>	-10,5	7,0	59,6	7	-	3												
Q8K2T1-1	Isoform 1 of NmrA-like family domain-containing protein 1	<i>Nmral1</i>	-16,5	18,0	34,3	6	-	4												
O88712-1	Isoform 1 of C-terminal-binding protein 1	<i>Ctbp1</i>	-13,0	11,0	47,6	5	-	4												
Q9CQ57	Developmental pluripotency-associated protein 5A	<i>Dppa5a</i>	-12,0	42,0	13,7	6	-	4												
P11031	Activated RNA polymerase II transcriptional coactivator p15	<i>Sub1</i>	-4,1	15,0	14,3	4	-	2												
P17563	Selenium-binding protein 1	<i>Selenbp1</i>	-12,2	8,0	52,4	6	-	4												

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moleculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moleculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moleculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
Q3TCR9	Putative uncharacterized protein	Zyx	-12,4	8,0	60,4	5	-	3												
Q61249	Immunoglobulin-binding protein 1	Igbp1	-14,5	11,0	38,9	5	-	3												
Q9DCH6	AN1-type zinc finger protein 6	Zfand6	-5,3	5,0	23,9	3	-	1												
P61161	Actin-related protein 2	Actr2	-8,1	9,0	44,6	4	-	3												
E9PXM9	Uncharacterized protein	Fbxw24	-7,4	4,0	53,3	3	-	2												
Q04857	Collagen alpha-1(VI) chain	Col6a1	-11,0	2,0	108,3	4	-	2												
O88271	Craniofacial development protein 1	Cfdp1	-5,4	10,0	32,8	3	-	2												
Q9R111	Guanine deaminase	Gda	-8,2	4,0	50,9	4	-	2												
Q6HA09-1	Isoform 1 of Astacin-like metalloendopeptidase	Astl	-15,2	15,0	47,3	4	-	4												
A3KMP2-1	Isoform 1 of Tetratricopeptide repeat protein 38	Ttc38	-8,5	7,0	52,1	4	-	3												
P97470	Serine/threonine-protein phosphatase 4 catalytic subunit	Ppp4c	-3,1	3,0	35,0	2	-	1												
Q9D892	Inosine triphosphate pyrophosphatase	ltpa	-3,6	7,0	21,8	1	-	1												
Q8K411-1	Isoform 1 of Presequence protease, mitochondrial	Pitrm1	-5,3	4,0	117,2	3	-	3												
Q62005	Zona pellucida sperm-binding protein 1	Zp1	-5,2	5,0	68,6	3	-	2												
Q8BHG2-1	Isoform 1 of UPF0587 protein C1orf123 homolog		-4,2	18,0	17,9	3	-	2												
O08691	Arginase-2, mitochondrial	Arg2	-6,3	8,0	38,8	3	-	2												
O70194	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit D	Eif3d	-6,4	4,0	63,8	3	-	2												
Q9CYA6	Zinc finger CCHC domain-containing protein 8	Zcchc8	-5,4	1,0	77,9	1	-	1												
Q9Z2C8-1	Isoform 1 of Y-box-binding protein 2	Ybx2	-5,0	4,0	38,2	2	-	1												
Q569Z6	Thyroid hormone receptor-associated protein 3	Thrap3	-5,7	2,0	108,0	2	-	2												
P35821	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	Ptpn1	-7,3	6,0	49,5	2	-	2												
O35943	Fratxin, mitochondrial	Fxn	-3,9	5,0	22,8	1	-	1												
O35969-1	Isoform 1 of Guanidinoacetate N-methyltransferase	Gamt	-4,4	5,0	26,2	1	-	1												
Q9Z2D8-1	Isoform 1 of Methyl-CpG-binding domain protein 3	Mbd3	-3,6	3,0	32,1	1	-	1												
Q91ZR2	Sorting nexin-18	Snx18	-7,0	2,0	67,8	1	-	1												
Q6DFW4	Nucleolar protein 58	Nop58	-3,2	2,0	60,2	1	-	1												
E9PWQ3	Uncharacterized protein	Col6a3	-4,8	0,0	286,4	1	-	1												
O54818	Tumor protein D53	Tpd5211	-6,4	6,0	22,4	1	-	1												
Q8K157	Aldose 1-epimerase	Galm	-6,0	4,0	37,7	1	-	1												
O54974	Galectin-7	Lgals7	-4,7	8,0	15,1	1	-	1												
P60670-1	Isoform 1 of Nuclear protein localization protein 4 homolog	Nploc4	-4,8	2,0	67,9	1	-	1												
Q91YP2	Neurolysin, mitochondrial	Nln	-3,5	1,0	80,3	1	-	1												
Q9CQH3	NAUH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 5, mitochondrial	Ndufb5	-3,4	5,0	21,6	1	-	1												
Q8BMS4	Hexaprenyldihydroxybenzoate methyltransferase, mitochondrial	Coq3	-4,5	4,0	40,8	1	-	1												
Q8VBW6	NEDD8-activating enzyme E1 regulatory subunit	Nae1	-3,3	2,0	60,1	1	-	1												
Q61739-1	Isoform Alpha-6X1B of Integrin alpha-6	Itga6	-3,1	1,0	121,9	1	-	1												
Q8BHL8	Proteasome inhibitor PI31 subunit	Psmf1	-3,3	4,0	29,6	1	-	1												
Q9D824-1	Isoform 1 of Pre-mRNA 3'-end-processing factor FIP1	Fip11	-4,5	2,0	64,8	1	-	1												
Q921E6-1	Isoform 1 of Polycomb protein EED	Eed	-3,9	3,0	50,1	1	-	1												
Q9QYB1	Chloride intracellular channel protein 4	Clic4	-4,0	5,0	28,6	1	-	1												

			IS						RMS						FA					
ID	Nom de la Protéine	Nom du Gène	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq	log(E value)	% Protéine Couverte	Poid Moléculaire (KDa)	Spectres	Pep Spécif Uniq	Pep Uniq
Q3TC72	Fumarylacetoacetate hydrolase domain-containing protein 2A	<i>Fahd2</i>	-3,9	4,0	34,6	1	-	1												
Q61292	Laminin subunit beta-2	<i>Lamb2</i>	-3,4	0,0	196,1	1	-	1												
E9Q3X0	Uncharacterized protein	<i>Mvp</i>	-3,6	1,0	96,7	1	-	1												

Tableau II en annexe : Liste des fonctions biologiques surreprésentées dans un, deux ou dans les trois stades de développement comparant avec la représentation de ces mêmes fonctions biologiques dans la totalité du génome de *Mus musculus*. Les chiffres entre parenthèses correspondent au nombre total de gènes ou protéines reconnues par la base de données de PANTHER.

Fonctions Biologiques	<i>Mus musculus</i>						
	liste de référence (22160)	Protéines identifiées IS (766)	P-value	Protéines identifiées RMS (1077)	P-value	Protéines identifiées FA (1078)	P-value
Cycle cellulaire	1673	104	1.10E-06	138	1.62E-07	131	1.26E-05
mitose	574	44	2.30E-04	55	3.99E-04	56	2.24E-04
Organisation composants cellulaires	1262	77	2.46E-04	95	3.30E-03	96	2.48E-03
morphogenèse composants cellulaires	964	57	1.38E-02	69	1.71E-01	68	3.04E-01
Transport mitochondrial	27	7	9.11E-03	6	3.87E-01	4	1.00E00
Morphogenèse des structures anatomiques	964	57	1.38E-02	69	1.71E-01	68	3.04E-01
Production précurseur métabolique et d'énergie	389	51	3.05E-13	68	9.43E-17	66	1.77E-15
ARN localisation	80	12	5.40E-03	11	3.71E-01	11	3.87E-01
Processus métaboliques	8657	487	1.81E-40	701	1.37E-65	670	1.31E-50
processus métaboliques primaires	8326	457	5.65E-33	663	6.16E-56	627	1.86E-40
processus métaboliques des protéines	3482	235	5.69E-23	339	3.15E-36	316	3.77E-27
assemblage des protéines	97	17	1.57E-05	23	1.79E-07	23	1.99E-07
repliement des protéines	203	41	1.27E-16	54	7.36E-21	51	1.68E-18

Fonctions Biologiques	<i>Mus musculus</i>						
	liste de référence (22160)	Protéines identifiées IS (766)	P-value	Protéines identifiées RMS (1077)	P-value	Protéines identifiées FA (1078)	P-value
protéolyse	1246	74	1.01E-03	104	1.33E-05	102	5.66E-05
processus métaboliques des glucides	839	65	4.38E-07	96	3.93E-12	95	1.37E-11
régulation du métabolisme des glucides	21	9	1.32E-05	9	2.13E-04	9	2.23E-04
processus métaboliques monosaccharides	255	26	2.89E-04	33	1.13E-04	35	1.53E-05
voie pentoses-phosphates	10	6	2.96E-04	6	1.99E-03	6	2.05E-03
processus métaboliques glycogène	90	11	6.50E-02	17	5.48E-04	15	8.88E-03
processus métaboliques des acides gras	283	19	9.34E-01	29	3.20E-02	29	3.51E-02
B oxydation des acides gras	49	9	1.16E-02	17	1.11E-07	17	1.20E-07
processus métaboliques des acides aminés (aa) et dérivés	403	30	1.80E-02	56	1.14E-09	47	1.31E-05
processus métaboliques des aa	403	30	1.80E-02	56	1.14E-09	47	1.31E-05
processus biosynthétiques des aa	149	14	1.50E-01	29	1.14E-07	21	3.75E-03
processus cataboliques des aa	86	8	1.00E00	14	1.87E-02	15	5.36E-03
processus métaboliques nucléobase, nucléoside et nucléotide	3853	174	1.71E-02	240	2.89E-03	230	8.32E-02
processus métaboliques ARN	673	64	1.57E-10	86	2.49E-13	87	1.21E-13
transformation ARNm	450	58	6.98E-15	76	5.14E-18	76	7.07E-18
raccordement ARN nucléaire, via spliceosome	368	47	1.01E-11	63	5.06E-15	63	6.58E-15
transformation mARN 3'-extrémité	101	12	4.63E-02	17	2.39E-03	17	2.56E-03
processus métaboliques ADN	493	32	1.14E-01	51	1.11E-04	45	1.13E-02

Fonctions Biologiques	<i>Mus musculus</i>						
	liste de référence (22160)	Protéines identifiées IS (766)	P-value	Protéines identifiées RMS (1077)	P-value	Protéines identifiées FA (1078)	P-value
ADN réplication	257	21	5.80E-02	37	1.74E-06	36	6.16E-06
processus métaboliques des pyrimidines	67	8	4.53E-01	15	2.75E-04	11	9.62E-02
processus métaboliques purines	122	19	1.71E-05	34	2.16E-13	31	4.79E-11
traduction	613	61	8.59E-11	93	3.26E-19	74	4.87E-10
amine acétylation des tARN pour la traduction de protéines	41	8	1.93E-02	14	4.25E-06	13	3.26E-05
processus métaboliques des coenzymes	104	19	1.46E-06	27	8.83E-10	25	2.90E-08
processus métaboliques acyl-CoA	28	5	5.41E-01	9	2.10E-03	8	1.49E-02
processus métaboliques composants nitrogène	78	12	4.24E-03	16	3.80E-04	14	7.19E-03
oxygène et réactives d'oxygène	66	12	8.28E-04	17	8.19E-06	15	2.46E-04
processus métaboliques ferrédoxines	12	3	1.00E00	6	5.48E-03	4	5.19E-01
processus biosynthétiques des vitamines	44	7	1.69E-01	9	6.23E-02	10	1.35E-02
Transport nucléaire	96	21	1.02E-08	23	1.47E-07	20	1.85E-05
Transport protéines	1496	100	5.58E-08	123	1.78E-06	131	1.64E-08

Tableau III en annexe : Tableau des protéines présentant une abondance significativement différente entre les trois stades de développement. Le ratio et l'ANOVA ont été calculés avec les abondances maximales et minimales calculées pour chaque protéine. Le score de la protéine est l'addition des scores des peptides, composant la protéine, identifiés par MASCOT. La figure 41 illustre le comportement de l'abondance normalisée de chaque protéine distribué dans les 5 types de profils (P1 à P5).

ID	Nom de la protéine	Nom du gène	Score de la protéine	ANOVA p-value	Ratio	Max	Min	Type de Profil
Q8K3V4	Protein-argininedeiminase type-6	Padi6	1103.2	1.9E-07	3.6	IS	FA	P1
P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	Ldhb	879.7	7.0E-06	4.9	IS	FA	P1
F8WIV2	Protein Serpinb6a	Serpinb6a	648.1	3.4E-07	2.4	IS	FA	P1
Q9CWU5	KH domain-containingprotein 3	Khdc3	569.8	5.9E-05	3.2	IS	RMS/FA	P1
Q9R0P9	Ubiquitincarboxyl-terminal hydrolaseisozyme L1	Uchl1	509.7	6.9E-05	4.4	IS	FA	P1
P24549	Retinaldehydrogenase 1	Aldh1a1	418.6	8.0E-04	2.0	IS	RMS	P1
P10761	Zona pellucidasperm-bindingprotein 3	Zp3	346.3	7.2E-05	4.9	IS	FA	P1
P54869	Hydroxymethylglutaryl-CoAsynthase, mitochondrial	Hmgcs2	335.2	1.0E-02	2.1	IS	RMS	P1
Q9DAW9	Calponin-3	Cnn3	308.2	2.3E-04	2.5	IS	FA	P1
Q9WVB3	Transducin-likeenhancerprotein 6	Tle6	239.0	1.9E-06	3.5	IS	FA	P1
P10518	Delta-aminolevulinicaciddehydratase	Alad	230.6	2.0E-04	2.7	IS	FA	P1
P20239	Zona pellucidasperm-bindingprotein 2	Zp2	189.8	7.0E-05	2.6	IS	FA	P1
Q08EC7	Pla2g4c protein	Pla2g4c	188.0	2.4E-04	3.1	IS	FA	P1
P24472	Glutathione S-transferase A4	Gsta4	153.6	3.3E-04	2.7	IS	RMS	P1
Q9CWE6	Oocyte-expressedproteinhomolog	Ooep	94.9	2.0E-02	4.8	IS	RMS/FA	P1
P14211	Calreticulin	Calr	276.5	1.3E-05	4.6	RMS	IS	P2

ID	Nom de la protéine	Nom du gène	Score de la protéine	ANOVA p-value	Ratio	Max	Min	Type de Profil
Q60817	Nascentpolypeptide-associatedcomplexsubunitalpha	Naca	270.9	1.6E-04	2.3	RMS	FA	P2
Q60605	Myosinlightpolypeptide 6	Myl6	174.3	1.6E-03	3.4	RMS	IS/FA	P2
G3UWR0	Calumenin	Calu	161.2	5.1E-05	3.1	RMS	IS	P2
Q4VAA2	Protein CDV3	Cdv3	106.5	2.1E-04	2.5	RMS	FA	P2
P20029	78 kDa glucose-regulatedprotein	Hspa5	2951.4	2.6E-05	2.7	FA	IS	P3
P17182	Alpha-enolase	Eno1	1548.7	4.5E-07	5.0	FA	IS	P3
P05213	Tubulin alpha-1B chain	Tuba1b	1527.4	7.0E-04	2.7	FA	IS	P3
P09103	Proteindisulfide-isomerase	P4hb	1416.4	4.3E-06	2.7	FA	IS	P3
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Gapdh	701.4	1.6E-07	4.0	FA	IS	P3
P14152	Malatedehydrogenase, cytoplasmic	Mdh1	462.0	4.8E-06	2.1	FA	IS	P3
P48036	Annexin A5	Anxa5	445.8	5.5E-04	2.0	FA	IS	P3
Q99KV1	DnaJ homolog subfamily B member 11	Dnajb11	420.4	1.1E-03	2.2	FA	IS	P3
G5E8N5	L-lactatedehydrogenase	Ldha	412.5	3.1E-06	3.4	FA	IS	P3
P24815	3 beta-hydroxysteroiddehydrogenase/Delta 5->4-isomerase type 1	Hsd3b1	394.6	6.4E-03	3.1	FA	IS	P3
E9PXX7	Thioredoxinomain-containingprotein 5	Txndc5	380.2	4.7E-03	2.1	FA	IS	P3
P57759	Endoplasmicreticulumresidentprotein 29	Erp29	361.6	3.1E-05	2.5	FA	IS	P3
O08807	Peroxioredoxin-4	Prdx4	358.2	4.0E-05	2.2	FA	IS	P3
P29758	Ornithineaminotransferase, mitochondrial	Oat	354.1	5.3E-04	2.1	FA	IS	P3
P51656	Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	Hsd17b1	351.2	3.6E-03	2.4	FA	IS	P3
P53994	Ras-relatedprotein Rab-2A	Rab2a	330.6	3.3E-03	2.0	FA	IS	P3
Q9DBJ1	Phosphoglyceratemutase 1	Pgam1	329.4	6.5E-04	2.2	FA	IS	P3

ID	Nom de la protéine	Nom du gène	Score de la protéine	ANOVA p-value	Ratio	Max	Min	Type de Profil
P17742	Peptidyl-prolylcis-trans isomerase A	Ppia	325.5	5.8E-03	2.2	RMS	IS	P3
P09411	Phosphoglyceratekinase 1	Pgk1	300.5	2.8E-03	2.7	FA	IS	P3
Q60715	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1	P4ha1	271.1	7.0E-05	2.2	FA	IS	P3
Q9QXT0	Protein canopy homolog 2	Cnpy2	254.6	3.8E-03	2.3	RMS	IS	P3
A2A7Q5	Prolyl 3-hydroxylase 1	Lepre1	225.9	2.7E-03	2.3	FA	IS	P3
G5E850	Cytochrome b-5, isoform CRA_a	Cyb5	222.6	4.9E-05	3.4	FA	IS	P3
Q3U4W8	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase	Usp5	216.6	5.5E-03	2.2	FA	IS	P3
G3XA14	Protein Akr1cl	Akr1cl	212.7	7.5E-03	3.4	RMS	IS	P3
P34884	Macrophage migration inhibitory factor	Mif	210.1	1.6E-05	2.1	FA	IS	P3
P22935	Cellular retinoic acid-binding protein 2	Crabp2	130.9	2.2E-04	2.6	FA	IS	P3
Q9CYA0	Cysteine-rich with EGF-like domain protein 2	Creld2	107.5	2.0E-02	2.9	FA	IS	P3
P63158	High mobility group protein B1	Hmgb1	267.9	2.0E-03	2.5	IS	RMS	P4
Q9JKB1	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L3	Uchl3	226.8	1.1E-03	2.6	IS	RMS	P4
Q9ERD7	Tubulin beta-3 chain	Tubb3	1342.8	1.6E-03	3.3	FA	RMS	P5
P31324	cAMP-dependent protein kinase type II-beta regulatory subunit	Prkar2b	1129.2	1.7E-04	3.7	FA	IS	P5
Q05816	Fatty acid-binding protein, epidermal	Fabp5	781.9	9.1E-05	3.1	FA	IS	P5
P17751	Triosephosphate isomerase	Tpi1	627.6	5.7E-05	2.3	FA	IS	P5
Q9D0F9	Phosphoglucomutase-1	Pgm1	403.2	1.2E-04	2.3	FA	IS/RMS	P5
Q99JF5	Diphosphomevalonate decarboxylase	Mvd	161.0	9.7E-05	3.6	FA	IS	P5
Q62159	Rho-related GTP-binding protein RhoC	Rhoc	136.3	2.1E-04	2.4	FA	RMS	P5

Tableau IV en annexe : Liste de protéines non identifiées dans le protéome de l'ovocyte isolé. Sur le coté indication si la protéine en cause a été identifiée dans un seul stade et lequel, ou si elle a été identifiée en commun avec un autre stade.

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
Uniquement en IS	Q04857	Collagen alpha-1(VI) chain	<i>Col6a1</i>
	O54974	Galectin-7	<i>Lgals7</i>
	Q9D964	Glycine amidinotransferase, mitochondrial	<i>Gatm</i>
	Q8BMS4	Hexaprenyldihydroxybenzoate methyltransferase, mitochondrial	<i>Coq3</i>
	Q921E6-1	Isoform 1 of Polycomb protein EED	<i>Eed</i>
	Q61292	Laminin subunit beta-2	<i>Lamb2</i>
	P27106	Muellerian-inhibiting factor	<i>Amh</i>
	P17563	Selenium-binding protein 1	<i>Selenbp1</i>
	Q569Z6	Thyroid hormone receptor-associated protein 3	<i>Thrap3</i>
	O54818	Tumor protein D53	<i>Tpd5211</i>
	P35821	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	<i>Ptpn1</i>
	E9PWQ3	Uncharacterized protein	<i>Col6a3</i>
	P97470	Serine/threonine-protein phosphatase 4 catalytic subunit	<i>Ppp4c</i>
	O88271	Craniofacial development protein 1	<i>Cfdp1</i>
	O35969-1	Isoform 1 of Guanidinoacetate N-methyltransferase	<i>Gamt</i>
	Q9Z2D8-1	Isoform 1 of Methyl-CpG-binding domain protein 3	<i>Mbd3</i>
	P02104	Hemoglobin subunit epsilon-Y2	<i>Hbb-y</i>
	O88712-1	Isoform 1 of C-terminal-binding protein 1	<i>Ctbp1</i>
	P26041	Moesin	<i>Msn</i>
	Q9D5J8	Putative uncharacterized protein	<i>Gstm6</i>
	Q9CWU5-1	Isoform 1 of Protein Filia	<i>Khdc3</i>
	O08738	Caspase-6	<i>Casp6</i>
	Q811L6-1	Isoform 1 of Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 4	<i>Mast4</i>
	Q8C599	Putative uncharacterized protein	<i>Celsr2</i>
	Q8HW98	IgLON family member 5	<i>Iglon5</i>
	Q9ROU0-1	Isoform 1 of Serine/arginine-rich splicing factor 10	<i>Srsf10</i>

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
Uniquement en RMS	Q8BXL7	ADP-ribosylation factor-related protein 1	<i>Arfrp1</i>
	Q3UGA8	Amidophosphoribosyltransferase	<i>Ppat</i>
	P06728	Apolipoprotein A-IV	<i>Apoa4</i>
	Q61024	Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing]	<i>Asns</i>
	Q5U5M8	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 3	<i>Bloc1s3</i>
	P08122	Collagen alpha-2(IV) chain	<i>Col4a2</i>
	P30285	Cyclin-dependent kinase 4	<i>Cdk4</i>
	Q64261	Cyclin-dependent kinase 6	<i>Cdk6</i>
	Q9D600	DNA replication complex GINS protein PSF2	<i>Gins2</i>
	Q923G2	DNA-directed RNA polymerases I, II, and III subunit RPABC3	<i>Polr2h</i>
	Q9D8Y0	EF-hand domain-containing protein D2	<i>Efhd2</i>
	Q9R1E0	Forkhead box protein O1	<i>Foxo1</i>
	Q60936-1	Isoform 1 of Chaperone activity of bc1 complex-like, mitochondrial	<i>Adck3</i>
	Q9Z1X4-1	Isoform 1 of Interleukin enhancer-binding factor 3	<i>Ilf3</i>
	Q925B0-1	Isoform 1 of PRKC apoptosis WT1 regulator protein	<i>Pawr</i>
	Q8BP27-1	Isoform 1 of Swi5-dependent recombination DNA repair protein 1 homolog	<i>Meir5</i>
	Q8CCF0-1	Isoform 1 of U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein Prp31	<i>Prpf31</i>
	Q61245-1	Isoform Long of Collagen alpha-1(XI) chain	<i>Col11a1</i>
	Q9Z110-1	Isoform Long of Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase	<i>Aldh18a1</i>
	Q80WP0	Killer cell lectin-like receptor family E member 1	<i>Klre1</i>
	Q91VS7	Microsomal glutathione S-transferase 1	<i>Mgst1</i>
	O08804	NK13	<i>Serpinb6b</i>
	Q9Z247	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP9	<i>Fkbp9</i>
	Q9Z2V4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase, cytosolic [GTP]	<i>Pck1</i>
	Q99K85	Phosphoserine aminotransferase	<i>Psat1</i>
	Q61074	Protein phosphatase 1G	<i>Ppm1g</i>
	Q8VE37	Regulator of chromosome condensation	<i>Rcc1</i>
	O08797	SPI6	<i>Serpinb9</i>
	Q6P9Z1	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily D member 3	<i>Smarcd3</i>
	Q80YQ1	Thrombospondin 1	<i>Thbs1</i>
	E9QNX7	Uncharacterized protein	<i>Atp4a</i>
	Q9CR27	WASH complex subunit CCDC53	<i>Ccdc53</i>

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
Uniquement en RMS	Q9CXA2	Trans-L-3-hydroxyproline déshydratase	<i>L3hypdh</i>
	Q9D7E4	UPF0449 protein C19orf25 homolog	
	Q8JZY2	COMM domain-containing protein 10	<i>Comm10</i>
	P97478	Ubiquinone biosynthesis protein COQ7 homolog	<i>Coq7</i>
	D3YYZ2	MCG1031578	<i>Gm5239</i>
	B8JJI2	Novel protein (A930001N09Rik)	<i>A930001N09Rik</i>
	D3Z482	Uncharacterized protein	<i>Ankrd26</i>
	P24288	Branched-chain-amino-acid aminotransferase, cytosolic	<i>Bcat1</i>
	Q08024-1	Isoform 1 of Core-binding factor subunit beta	<i>Cbfb</i>
	Q3UWS5	Novel gene (E330009P21Rik)	<i>Fbxw21</i>
	Q8C5P5-1	Isoform 1 of 5'-nucleotidase domain-containing protein 1	<i>Nt5dc1</i>
	Q8CH25-1	Isoform 1 of SAFB-like transcription modulator	<i>Sltm</i>
	Q8K354	Carbonyl reductase 3	<i>Cbr3</i>
	Q91YN9	BAG family molecular chaperone regulator 2	<i>Bag2</i>
	Q921W4-1	Isoform 1 of Quinone oxidoreductase-like protein 1	<i>Cryz1</i>
	Q9D0R8	Protein LSM12 homolog	<i>Lsm12</i>
	Q9D7E3	Ovarian cancer-associated gene 2 protein homolog	<i>Ovca2</i>
	Q9JLM9	Growth factor receptor-bound protein 14	<i>Grb14</i>
	Q9Z206-2	Isoform 2 of Neuroepithelial cell-transforming gene 1 protein	<i>Net1</i>
	Q9Z2R6	Protein unc-119 homolog A	<i>Unc119</i>
Uniquement en FA	Q9ERR7	15 kDa selenoprotein	<i>Sep15</i>
	Q9QXE0	2-hydroxyacyl-CoA lyase 1	<i>Hac1</i>
	Q9EQI8	39S ribosomal protein L46, mitochondrial	<i>Mrpl46</i>
	Q9D864	Actin-related protein 6	<i>Actr6</i>
	Q9DBR0	A-kinase anchor protein 8	<i>Akap8</i>
	Q9EPC1	Alpha-parvin	<i>Parva</i>
	Q8CI32	BAG family molecular chaperone regulator 5	<i>Bag5</i>
	Q9R013	Cathepsin F	<i>Ctsf</i>
	Q9WUU7	Cathepsin Z	<i>Ctsz</i>
	O35648	Centrin-3	<i>Cetn3</i>
	Q99LC2	Cleavage stimulation factor subunit 1	<i>Cstf1</i>
	Q91W50	Cold shock domain-containing protein E1	<i>Csde1</i>

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
	P46414	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B	<i>Cdkn1b</i>
Uniquement en FA	P97821	Dipeptidyl peptidase 1	<i>Ctsc</i>
	P52432	DNA-directed RNA polymerases I and III subunit RPAC1	<i>Polr1e</i>
	Q9Z0Y1	Dynactin subunit 3	<i>Dctn3</i>
	Q9WUZ9	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5	<i>Entpd5</i>
	O08579	Emerin	<i>Emd</i>
	Q8BHJ5	F-box-like/WD repeat-containing protein TBL1XR1	<i>Tbl1xr1</i>
	Q60648	Ganglioside GM2 activator	<i>Gm2a</i>
	Q3THK3	General transcription factor IIF subunit 1	<i>Gtf2f1</i>
	Q8VD04	GRIP1-associated protein 1	<i>Gripap1</i>
	Q91VM5	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G-like 1	<i>Rbmx11</i>
	Q00PI9	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like protein 2	<i>Hnrnpul2</i>
	O54879	High mobility group protein B3	<i>Hmgb3</i>
	Q9EPJ9-1	Isoform 1 of ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein 1	<i>Arfgap1</i>
	Q8BNU0-1	Isoform 1 of Armadillo repeat-containing protein 6	<i>Armc6</i>
	Q3TDN2-1	Isoform 1 of FAS-associated factor 2	<i>Faf2</i>
	Q9ESZ8-1	Isoform 1 of General transcription factor II-I	<i>Gtf2i</i>
	Q9DBZ1-1	Isoform 1 of Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase-interacting protein	<i>Ikbip</i>
	Q9JHP7-1	Isoform 1 of KDEL motif-containing protein 1	<i>Kdelc1</i>
	Q5F2E7-1	Isoform 1 of Nuclear fragile X mental retardation-interacting protein 2	<i>Nufip2</i>
	Q9Z0P4-1	Isoform 1 of Paralemmin	<i>Palm</i>
	Q80TH2-1	Isoform 1 of Protein LAP2	<i>Erb2ip</i>
	Q9CW46-1	Isoform 1 of Ribonucleoprotein PTB-binding 1	<i>Raver1</i>
	P70665-1	Isoform 1 of Sialate O-acetyltransferase	<i>Siae</i>
	Q6PDG5-1	Isoform 1 of SWI/SNF complex subunit SMARCC2	<i>Smarcc2</i>
	O55201-1	Isoform 1 of Transcription elongation factor SPT5	<i>Supt5h</i>
	Q8C5W3-1	Isoform 1 of Tubulin-specific chaperone cofactor E-like protein	<i>Tbcel</i>
	Q5XG73-2	Isoform 2 of Acyl-CoA-binding domain-containing protein 5	<i>Acbd5</i>
	O88448	Kinesin light chain 2	<i>Klc2</i>
	O89017	Legumain	<i>Lgmn</i>
	A2ALV5	Likely orthologue of H. sapiens chromosome 9 open reading frame 84	<i>AI481877</i>
	P70699	Lysosomal alpha-glucosidase	<i>Gaa</i>
	O09159	Lysosomal alpha-mannosidase	<i>Man2b1</i>

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
	P24452	Macrophage-capping protein	<i>Capg</i>
Uniquement en FA	P02802	Metallothionein-1	<i>Mt1</i>
	A1L3T3	N-sulfoglucosamine sulfohydrolase (Sulfamidase)	<i>Sgsh</i>
	P81117	Nucleobindin-2	<i>Nucb2</i>
	Q9CQ48	NudC domain-containing protein 2	<i>Nudcd2</i>
	Q9DBX2	Phosducin-like protein	<i>Pdcl</i>
	Q8K297	Procollagen galactosyltransferase 1	<i>Glt25d1</i>
	Q6NVG7	Procollagen galactosyltransferase 2	<i>Glt25d2</i>
	Q9R0E2	Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1	<i>Plod1</i>
	Q3TLY5	Putative uncharacterized protein	<i>Gla</i>
	Q8BSE0	Regulator of microtubule dynamics protein 2	<i>Fam82a1</i>
	Q8K0Q5	Rho GTPase-activating protein 18	<i>Arhgap18</i>
	Q62159	Rho-related GTP-binding protein RhoC	<i>Rhoc</i>
	P07214	SPARC	<i>Sparc</i>
	Q8QZY9	Splicing factor 3B subunit 4	<i>Sf3b4</i>
	Q8BGJ9	Splicing factor U2AF 26 kDa subunit	<i>U2af114</i>
	Q5U4D9	THO complex subunit 6 homolog	<i>Thoc6</i>
	Q9ER39	Torsin-1A	<i>Tor1a</i>
	Q78IS1	Transmembrane emp24 domain-containing protein 3	<i>Tmed3</i>
	Q91W67	Ubiquitin-like protein 7	<i>Ubl7</i>
	Q4KML4	Costars family protein C6orf115 homolog	<i>Abrac1</i>
	Q62087	Serum paraoxonase/lactonase 3	<i>Pon3</i>
	P53811	Phosphatidylinositol transfer protein beta isoform	<i>Pitpnb</i>
	P50543	Protein S100-A11	<i>S100a11</i>
	E9Q509	Pyruvate kinase	<i>Pklr</i>
	Q6P8X1	Sorting nexin-6	<i>Snx6</i>
	Q8CF66	Ragulator complex protein LAMTOR4	<i>Lamtor4</i>
	P17183	Gamma-enolase	<i>Eno2</i>
	P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	<i>Hspa11</i>
	Q60715-2	Isoform 2 of Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1	<i>P4ha1</i>
	O70250	Phosphoglycerate mutase 2	<i>Pgam2</i>
Q8CEV2	Putative uncharacterized protein	<i>3000002C10Rik</i>	
D3Z494	MCG142264, isoform CRA_a	<i>Akr1b10</i>	

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
Uniquement en FA	Q4KL14	Trafficking protein particle complex subunit 3-like protein	<i>Bet3l</i>
	Q9D281	Protein Noxp20	<i>Fam114a1</i>
	A2AQR0	Glycerol phosphate dehydrogenase 2, mitochondrial	<i>Gpd2</i>
	P12265	Beta-glucuronidase	<i>Gusb</i>
	Q91ZG2	Metallophosphoesterase domain-containing protein 1	<i>Mpped1</i>
	Q9R060	Cytosolic Fe-S cluster assembly factor NUBP1	<i>Nubp1</i>
	O35386	Phytanoyl-CoA dioxygenase, peroxisomal	<i>Phyh</i>
	Q9D1G2-1	Isoform 1 of Phosphomevalonate kinase	<i>Pmvk</i>
	Q8C650-1	Isoform 1 of Septin-10	<i>Sept10</i>
En commun entre les différents stades	Q91YI0	Argininosuccinate lyase	<i>Asl</i>
	B2RQC6	Carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamylase, and dihydroorotase	<i>Cad</i>
	Q80YV2-1	Isoform 1 of Nuclear-interacting partner of ALK	<i>Zc3hc1</i>
	Q8BH93	MAPK-interacting and spindle-stabilizing protein-like	<i>Mapk1ip1l</i>
	Q8R3C0	Mini-chromosome maintenance complex-binding protein	<i>Mcmbp</i>
	Q9DCC8	Mitochondrial import receptor subunit TOM20 homolog	<i>Tomm20</i>
	Q8VEJ4	Notchless protein homolog 1	<i>Nle1</i>
	P70353	Nuclear transcription factor Y subunit gamma	<i>Nfyc</i>
	Q923D4	Splicing factor 3B subunit 5	<i>Sf3b5</i>
	Q8JZX4	Splicing factor 45	<i>Rbm17</i>
	Q9CZU3	Superkiller viralicidic activity 2-like 2	<i>Skiv2l2</i>
	E9Q616	Uncharacterized protein	<i>Ahnak</i>
	Q9CXW2	28S ribosomal protein S22, mitochondrial	<i>Mrps22</i>
	Q8VE70	Programmed cell death protein 10	<i>Pdcd10</i>
	Q9CQ62	2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial	<i>Decr1</i>
	Q9WV54	Acid ceramidase	<i>Asah1</i>
	A2BDX3	Adenylyltransferase and sulfurtransferase MOCS3	<i>Mocs3</i>
	Q9EQX4	Allograft inflammatory factor 1-like	<i>Aif1l</i>
	Q8R2U4	Alpha N-terminal protein methyltransferase 1A	<i>Mettl11a</i>
	P07356	Annexin A2	<i>Anxa2</i>
	P05202	Aspartate aminotransferase, mitochondrial	<i>Got2</i>
	P29416	Beta-hexosaminidase subunit alpha	<i>Hexa</i>
	Q8CIF4	Biotinidase	<i>Btd</i>

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
En commun entre les différents stades	O35855	Branched-chain-amino-acid aminotransferase, mitochondrial	<i>Bcat2</i>
	Q9QXX4	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar2	<i>Slc25a13</i>
	Q8BMD8	Calcium-binding mitochondrial carrier protein SCaMC-1	<i>Slc25a24</i>
	P06797	Cathepsin L1	<i>Ctsl1</i>
	Q6A068	Cell division cycle 5-related protein	<i>Cdc5l</i>
	Q9QZ82	Cholesterol side-chain cleavage enzyme, mitochondrial	<i>Cyp11a1</i>
	Q9CQJ6	Density-regulated protein	<i>Denr</i>
	Q9ET22	Dipeptidyl peptidase 2	<i>Dpp7</i>
	P28352	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase	<i>Apex1</i>
	P46935	E3 ubiquitin-protein ligase NEDD4	<i>Nedd4</i>
	Q9EQH2	Endoplasmic reticulum aminopeptidase 1	<i>Erap1</i>
	Q8VEH8	Endoplasmic reticulum lectin 1	<i>Erlec1</i>
	Q60876	Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1	<i>Eif4ebp1</i>
	Q9QXE7	F-box-like/WD repeat-containing protein TBL1X	<i>Tbl1x</i>
	Q99LJ6	Glutathione peroxidase 7	<i>Gpx7</i>
	P51655	Glypican-4	<i>Gpc4</i>
	Q9D7B6	Isobutyryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Acad8</i>
	P54071	Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial	<i>Idh2</i>
	Q91WT9-1	Isoform 1 of Cystathionine beta-synthase	<i>Cbs</i>
	Q3UFY7-1	Isoform 1 of Cytosolic 5'-nucleotidase III-like protein	<i>Nt5c3l</i>
	Q99M71-1	Isoform 1 of Mammalian ependymin-related protein 1	<i>Epdr1</i>
	Q9WTX8-1	Isoform 1 of Mitotic spindle assembly checkpoint protein MAD1	<i>Mad1l1</i>
	Q9WVJ3-1	Isoform 1 of Plasma glutamate carboxypeptidase	<i>Pgcp</i>
	Q9DAU1-1	Isoform 1 of Protein canopy homolog 3	<i>Cnpy3</i>
	Q9QYG0-1	Isoform 1 of Protein NDRG2	<i>Ndrg2</i>
	Q3TCN2-1	Isoform 1 of Putative phospholipase B-like 2	<i>Plbd2</i>
	P35279-1	Isoform 1 of Ras-related protein Rab-6A	<i>Rab6a</i>
	Q64337-1	Isoform 1 of Sequestosome-1	<i>Sqstm1</i>
	Q6P4P1-1	Isoform 1 of Serine protease inhibitor A3A	<i>Serpina3a</i>
	Q7TMY4-1	Isoform 1 of THO complex subunit 7 homolog	<i>Thoc7</i>
	P62996-1	Isoform 1 of Transformer-2 protein homolog beta	<i>Tra2b</i>
Q8C854-1	Isoform 3 of Myelin expression factor 2	<i>Myef2</i>	
Q99PL5-1	Isoform 3 of Ribosome-binding protein 1	<i>Rrbp1</i>	

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
En commun entre les différents stades	Q60716-1	Isoform IIb of Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-2	<i>P4ha2</i>
	P53657-1	Isoform R-type of Pyruvate kinase isozymes R/L	<i>PkIr</i>
	Q8BLN5	Lanosterol synthase	<i>Lss</i>
	Q923B1	Lariat debranching enzyme	<i>Dbr1</i>
	Q9D154	Leukocyte elastase inhibitor A	<i>Serpinb1a</i>
	P16675	Lysosomal protective protein	<i>Ctsa</i>
	Q9D967	Maesium-dependent phosphatase 1	<i>Mdp1</i>
	P45952	Medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	<i>Acadm</i>
	Q9R008	Mevalonate kinase	<i>Mvk</i>
	Q64191	N(4)-(beta-N-acetylglucosaminy)-L-asparaginase	<i>Aga</i>
	Q9CPP0	Nucleoplasmin-3	<i>Npm3</i>
	Q9JJF0	Nucleosome assembly protein 1-like 5	<i>Nap115</i>
	Q8BFY6	Peflin	<i>Pef1</i>
	Q91VA6	Polymerase delta-interacting protein 2	<i>Poldip2</i>
	Q8BWU5	Probable tRNA threonylcarbamoyladenosine biosynthesis protein Osgep	<i>Osgep</i>
	Q91ZX7	Prolow-density lipoprotein receptor-related protein 1	<i>Lrp1</i>
	Q62084	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 14B	<i>Ppp1r14b</i>
	Q3UPH1	Protein PRRC1	<i>Prrc1</i>
	P23492	Purine nucleoside phosphorylase	<i>Pnp</i>
	Q922P9	Putative oxidoreductase GLYR1	<i>Glyr1</i>
	Q9D927	Putative uncharacterized protein	<i>1810009N02Rik</i>
	Q3UGY5	Putative uncharacterized protein	<i>Fn1</i>
	Q9CX86	Putative uncharacterized protein	<i>Hnrnpa0</i>
	Q8BME1	Putative uncharacterized protein	<i>Pgm3</i>
	Q3TL27	Putative uncharacterized protein	<i>Xpnpep1</i>
	Q8C112	Putative uncharacterized protein (Fragment)	<i>Leprel4</i>
	Q8BH97	Reticulocalbin-3	<i>Rcn3</i>
	P24549	Retinal dehydrogenase 1	<i>Aldh1a1</i>
	O55057	Retinal rod rhodopsin-sensitive cGMP 3',5'-cyclic phosphodiesterase subunit delta	<i>Pde6d</i>
	Q9CWY8	Ribonuclease H2 subunit A	<i>Rnaseh2a</i>
	A2ARJ0	Sial transducing adaptor molecule (SH3 domain and ITAM motif) 1 (Fragment)	<i>Stam</i>
	Q64442	Sorbitol dehydrogenase	<i>Sord</i>

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
En commun entre les différents stades	Q9WV80	Sorting nexin-1	<i>Snx1</i>
	Q8JZL3	Thiamine-triphosphatase	<i>Thtpa</i>
	Q8VE80	THO complex subunit 3	<i>Thoc3</i>
	P37804	Transgeline	<i>Tagln</i>
	Q9DCG9	tRNA methyltransferase 112 homolog	<i>Trmt112</i>
	Q6P5G6	UBX domain-containing protein 7	<i>Ubxn7</i>
	D3YZZ5	Uncharacterized protein	<i>Tmed7</i>
	E9QM54	Uncharacterized protein	<i>Plod2</i>
	Q7TQ40	Zinc finger protein ZIC 5	<i>Zic5</i>
	P62737	Actin, aortic smooth muscle	<i>Acta2</i>
	P63268	Actin, gamma-enteric smooth muscle	<i>Actg2</i>
	Q8BMK4	Cytoskeleton-associated protein 4	<i>Ckap4</i>
	Q3TMF5	Dihydrolipoamide branched chain transacylase E2	<i>Dbt</i>
	P70333	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2	<i>Hnrnph2</i>
	Q35344	Importin subunit alpha-3	<i>Kpna3</i>
	P58774-2	Isoform 2 of Tropomyosin beta chain	<i>Tpm2</i>
	P83877	Thioredoxin-like protein 4A	<i>Txn14a</i>
	B1AT82	MCG6846, isoform CRA_c	<i>Prpsap1</i>
	Q91WU5	Arsenite methyltransferase	<i>As3mt</i>
	P61963	DDB1- and CUL4-associated factor 7	<i>Dcaf7</i>
	P13020-1	Isoform 1 of Gelsolin	<i>Gsn</i>
	P59235	Nucleoporin Nup43	<i>Nup43</i>
	Q8BFQ8	Parkinson disease 7 domain-containing protein 1	<i>Pddc1</i>
	O54941	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator chromatin subfamily E member 1	<i>Smarce1</i>
	Q6PFR5	Transformer-2 protein homolog alpha	<i>Tra2a</i>
	A8DUK2	Beta-globin	<i>Hbb-b1</i>
	P51859	Hepatoma-derived growth factor	<i>Hdgf</i>
	Q9JIX8-1	Isoform 1 of Apoptotic chromatin condensation inducer in the nucleus	<i>Acin1</i>
	Q9CSU0-1	Isoform 1 of Regulation of nuclear pre-mRNA domain-containing protein 1B	<i>Rprd1b</i>
	Q99NB8	Ubiquilin-4	<i>Ubqln4</i>
Q91WT7	3-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase type 1	<i>Akr1c14</i>	
Q8QZS1	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial	<i>Hibch</i>	

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
En commun entre les différents stades	Q9CPW4	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5	<i>Arpc5</i>
	O55137	Acyl-coenzyme A thioesterase 1	<i>Acot1</i>
	Q9QYR9	Acyl-coenzyme A thioesterase 2, mitochondrial	<i>Acot2</i>
	Q9CZS1	Aldehyde dehydrogenase X, mitochondrial	<i>Aldh1b1</i>
	P28658	Ataxin-10	<i>Atxn10</i>
	Q9CY64	Biliverdin reductase A	<i>Blvra</i>
	Q60865	Caprin-1	<i>Caprin1</i>
	P70677	Caspase-3	<i>Casp3</i>
	Q9Z1Q5	Chloride intracellular channel protein 1	<i>Clic1</i>
	Q61686	Chromobox protein homolog 5	<i>Cbx5</i>
	O35459	Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase, mitochondrial	<i>Ech1</i>
	O08553	Dihydropyrimidinase-related protein 2	<i>Dpysl2</i>
	Q80UW8	DNA-directed RNA polymerases I, II, and III subunit RPABC1	<i>Polr2e</i>
	Q61550	Double-strand-break repair protein rad21 homolog	<i>Rad21</i>
	P62878	E3 ubiquitin-protein ligase RBX1	<i>Rbx1</i>
	Q921G7	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase, mitochondrial	<i>Etfdh</i>
	Q8BTW3	Exosome complex component MTR3	<i>Exosc6</i>
	Q921I9	Exosome complex component RRP41	<i>Exosc4</i>
	Q8VED9	Galectin-related protein A	<i>Grpa</i>
	Q9D0D5	General transcription factor IIE subunit 1	<i>Gtf2e1</i>
	P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	<i>Gstm1</i>
	P15626	Glutathione S-transferase Mu 2	<i>Gstm2</i>
	Q3SXD3	HD domain-containing protein 2	<i>Hddc2</i>
	Q9Z130	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like	<i>Hnrpdl</i>
	O09106	Histone deacetylase 1	<i>Hdac1</i>
	P54869	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, mitochondrial	<i>Hmgcs2</i>
	Q80V26	Inositol monophosphatase 3	<i>Impad1</i>
	Q60739-1	Isoform 1 of BAG family molecular chaperone regulator 1	<i>Bag1</i>
	Q7TNG5-1	Isoform 1 of Echinoderm microtubule-associated protein-like 2	<i>Eml2</i>
	P34914-1	Isoform 1 of Epoxide hydrolase 2	<i>Ephx2</i>
	Q920Q8-1	Isoform 1 of Influenza virus NS1A-binding protein homolog	<i>Ivns1abp</i>
	Q5SUF2-1	Isoform 1 of Luc7-like protein 3	<i>Luc7l3</i>
Q8R326-1	Isoform 1 of Paraspeckle component 1	<i>Pspc1</i>	

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
En commun entre les différents stades	Q8CCS6-1	Isoform 1 of Polyadenylate-binding protein 2	<i>Pabpn1</i>
	Q60715-1	Isoform 1 of Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1	<i>P4ha1</i>
	Q7TNC4-1	Isoform 1 of Putative RNA-binding protein Luc7-like 2	<i>Luc7l2</i>
	Q8VH51-1	Isoform 1 of RNA-binding protein 39	<i>Rbm39</i>
	Q9CWZ3-1	Isoform 1 of RNA-binding protein 8A	<i>Rbm8a</i>
	P63328-1	Isoform 1 of Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit alpha isoform	<i>Ppp3ca</i>
	Q9Z2I8-1	Isoform 1 of Succinyl-CoA ligase [GDP-forming] subunit beta, mitochondrial	<i>Suclg2</i>
	Q91WG2-2	Isoform 3 of Rab GTPase-binding effector protein 2	<i>Rabep2</i>
	P21619-1	Isoform B2 of Lamin-B2	<i>Lmnb2</i>
	P70202	Latexin	<i>Lxn</i>
	P24527	Leukotriene A-4 hydrolase	<i>Lta4h</i>
	Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	<i>Lasp1</i>
	Q99PU5	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase ACSBG1	<i>Acsbg1</i>
	P28667	MARCKS-related protein	<i>Marcks11</i>
	P62077	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim8 B	<i>Timm8b</i>
	Q99LD8	N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	<i>Ddah2</i>
	Q9CQ45	Neudesin	<i>Nenf</i>
	Q9D0T1	NHP2-like protein 1	<i>Nhp2l1</i>
	P30412	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase C	<i>Ppic</i>
	Q61576	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP10	<i>Fkbp10</i>
	P43883	Perilipin-2	<i>Plin2</i>
	Q8BH04	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP], mitochondrial	<i>Pck2</i>
	Q9D287	Pre-mRNA-splicing factor SPF27	<i>Bcas2</i>
	Q9R0E1	Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 3	<i>Plod3</i>
	P97371	Proteasome activator complex subunit 1	<i>Psme1</i>
	P97372	Proteasome activator complex subunit 2	<i>Psme2</i>
	Q8CIG8	Protein arginine N-methyltransferase 5	<i>Prmt5</i>
	P61327	Protein mago nashi homolog	<i>Magoh</i>
	O89086	Putative RNA-binding protein 3	<i>Rbm3</i>
	P97855	Ras GTPase-activating protein-binding protein 1	<i>G3bp1</i>
Q05186	Reticulocalbin-1	<i>Rcn1</i>	
Q920A5	Retinoid-inducible serine carboxypeptidase	<i>Scpep1</i>	

	ID	Nom de la Protéine	Nom du gène
En commun entre les différents stades	Q9D1J3	SAP domain-containing ribonucleoprotein	<i>Sarnp</i>
	Q921H9	Sel1 repeat-containing protein 1	<i>Selrc1</i>
	Q6P1F6	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory subunit B alpha isoform	<i>Ppp2r2a</i>
	P19324	Serpin H1	<i>Serpinh1</i>
	Q9JJU8	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein	<i>Sh3bgrl</i>
	Q9D8U8	Sorting nexin-5	<i>Snx5</i>
	Q9D554	Splicing factor 3A subunit 3	<i>Sf3a3</i>
	Q8BH58	TIP41-like protein	<i>Tiprl</i>
	P42669	Transcriptional activator protein Pur-alpha	<i>Pura</i>
	Q8R1V4	Transmembrane emp24 domain-containing protein 4	<i>Tmed4</i>
	O89023	Tripeptidyl-peptidase 1	<i>Tpp1</i>
	Q9QZM0	Ubiquilin-2	<i>Ubqln2</i>
	E9PWE8	Uncharacterized protein	<i>Dpysl3</i>
	D3Z7P3	Uncharacterized protein	<i>Gls</i>
	Q8BGC4	Zinc-binding alcohol dehydrogenase domain-containing protein 2	<i>Zadh2</i>

VIII. Communications

Communication affichée aux **16èmes Journées Nationales de la Fédération Française d'Etudes de la Reproduction (FFER)**, Marseille, France, 21-23 Septembre 2011.

Profil protéomique de follicules ovariens de souris au cours de leur croissance *in vitro* utilisant un fractionnement IEF OFFGEL suivie d'une identification par 2D LC-MS/MS

A. Anastácio¹, C. Pionneau², C. Poirot¹
¹UF Biologie de la Reproduction Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Université Pierre & Marie Curie, Paris 6
²Plateforme Post-génomique de la Pitié-Salpêtrière (P3S) INSERM, Université Pierre & Marie Curie, Paris 6

Introduction

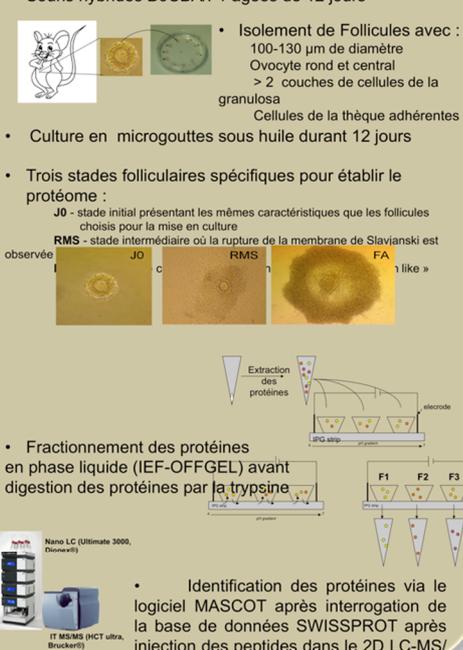
La folliculogénèse est un processus complexe dont beaucoup de mécanismes restent à ce jour inconnus. Mieux connaître la folliculogénèse *in vitro* est un enjeu majeur en biologie de la reproduction principalement en vue de l'utilisation du cortex ovarien congelé pour préserver la fertilité de femmes qui vont subir un traitement à haut risque pour la fertilité et pour lesquelles la greffe ovarienne n'est pas envisageable en raison d'un risque de réintroduction de la maladie. L'étude des protéines exprimées lors de la croissance folliculaire pourrait nous donner d'importantes informations sur le développement folliculaire.

Objectifs

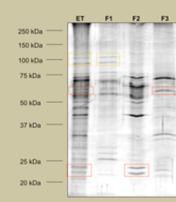
Etablir le profil protéomique des follicules ovariens de souris à des stades spécifiques de leur développement *in vitro*.

Matériels et méthodes

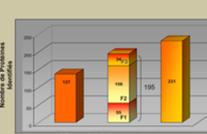
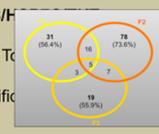
- Souris hybrides B6CBA/F1 âgées de 12 jours
- Isolément de Follicules avec :
 Oocyte rond et central
 > 2 couches de cellules de la granulosa
 Cellules de la thèque adhérentes
- Culture en microgouttes sous huile durant 12 jours
- Trois stades folliculaires spécifiques pour établir le protéome :
 JO - stade initial présentant les mêmes caractéristiques que les follicules choisis pour la mise en culture
 RMS - stade intermédiaire où la rupture de la membrane de Slavianski est observée
 FA - stade final
- Extraction des protéines
- Fractionnement des protéines en phase liquide (IEF-OFFGEL) avant digestion des protéines par la trypsine
- Identification des protéines via le logiciel MASCOT après interrogation de la base de données SWISSPROT après injection des peptides dans le 2D LC-MS/MS



Résultats



- Enrichissement de la proportion de certaines protéines dans les Fractions par rapport à l'extrait total (ET) (encadrement rouge)
- Certaines protéines ne sont présentes que dans une seule Fraction (encadrement jaune)
- Identification de certaines protéines dans les fractions mais pas dans l'extrait total (ET)
- Nombre de protéines identifiées augmenté par le fractionnement
- Des protéines identifiées dans chaque fraction (F1-55 ; F2-106 ; F3-34) seulement 5 protéines étaient communes aux 3 fractions.
- Ces 5 protéines - ATPB/G3P/GRP78/H... correspondaient aux protéines plus abondantes identifiées dans l'Extrait Total
- Plus de 50% des protéines sont spécifiques à chaque fraction.
- Identification de protéines spécifiques de l'ovocyte - ZP3, et des protéines d'intérêt tel que les récepteurs à la progestérone - PGRC1, uniquement dans certaines fractions.

Conclusions

Ces résultats préliminaires obtenus montrent l'applicabilité du fractionnement protéomique avant la digestion à ce type de cellules et permet d'identifier dans les fractions des protéines moins abondantes et qui se trouvaient masquées dans l'extrait total. Avec ces résultats on espère pouvoir identifier le plus grand nombre de protéines à chaque stade de développement choisi et ainsi établir un profil protéomique le plus complet possible des follicules ovariens de souris au cours de leur développement.

Communication affichée au 29^{ème} Congrès de la Société Française d'Electrophorese et d'Analyse Protéomique (SFEAP), Rouen, France, 15-17 Octobre 2012.

Combination of IEF prefractionation with 1D and 2DLC-MS/MS analysis for the proteomic study of mice ovarian follicles during *in vitro* development

A. Anastácio ¹, C. Pionneau ², S. Chardonnet ², C. Poirot ¹



¹ UF Biologie de la Reproduction Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, UPMC, Paris 6
² Plateforme Post-génomique de la Pitié-Salpêtrière (P3S) INSERM, UPMC, Paris 6



Introduction

Woman fertility can be altered by severe medical treatments such as chemotherapy. The cryopreservation of ovarian tissue, followed by *in vitro* folliculogenesis, is one of the major outlooks for fertility preservation. Nowadays though the regulation and molecular mechanisms of *in vitro* folliculogenesis remain poorly characterized.

Secondary follicles consist of a central oocyte, blocked in meiosis prophase 1, surrounded by two or more layers of granulosa cells. Along follicle development, granulosa cells proliferate and the oocyte size increases. Identification, molecular characterization and functional elucidation of proteins expressed during *in vitro* follicle development may provide a better understanding of the folliculogenesis process and be of use for the development of medical applications.

Few proteomic studies have been performed in this field, mainly focusing on the isolated fully grown oocyte. Regarding the major importance of the interaction between oocytes and their surrounding cells, it appears favorable to engage a global proteomic study of the whole follicle.

Aim

In order to investigate the molecular aspects of *in vitro* folliculogenesis, we examined three different developmental stages, characterized by specific morphological aspects, in mice cultured follicles. We used an original proteomic approach to study whole follicle protein extracts through the combination of IEF prefractionation, short SDS-PAGE migration and 1D+2DLC-MS/MS analysis.

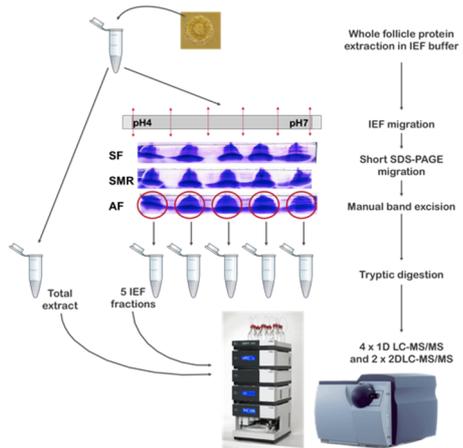


In vitro culture of isolated mice secondary follicles. Three distinct developmental stages were used for proteomic analysis. SF: Start culture Follicle, SMR: Slavjanski Membrane Rupture, AF: Antrum Formation follicle

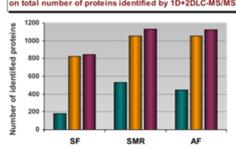
Materials and Methods

- Microdrops system culture of isolated secondary mice follicles: 100-130µm of diameter / 2 or more granulosa cells layers / presence of thecal cells and presence of round and central oocyte. 1043 follicles for SF stage, 359 for SMR stage and 124 for AF stage
- Protein extraction: 7M Urea, 2M Thiourea, 1% CHAPS, 0.5% SB3-10, 0.5% Triton X-100, 10% isobutanol
- IEF "in-gel" Prefractionation: 100 µg proteins / sample. IPG strip 7 cm, pH 4-7, 15000 VH → cut into 5 peaces of 1 cm long. SDS-PAGE: 12% acrylamide, migration in the first 5 mm of the resolving gel. Coomassie Blue staining, manual cutting of the 5 large bands
- Tryptic digestion and peptide extraction for LC-MS/MS analysis
- 1D and 2DLC-MS/MS performed on HPLC Ultimate3000 (Dionex) coupled to an HCTultra ion trap (Bruker). 1st dimension: 6 steps SCX separation with ammonium acetate solutions (0-20-35-50-100-1000mM); 2nd dimension: RP C-18 100Å.
- Protein identification: X!Tandem was run using the X!Tandem pipeline (<http://pappso.inra.fr/bioinfo/xtandempipeline/>) with 1 peptide, p<0.05, protein Evalue < 0.003, FDR<1%

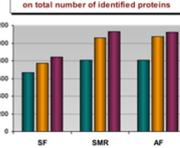
Experimental Strategy



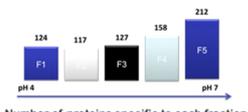
Influence of IEF prefractionation on total number of proteins identified by 1D+2DLC-MS/MS



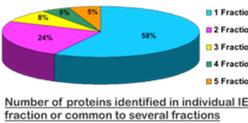
Influence of HPLC separation mode on total number of identified proteins



Comparison of the number of identified proteins at the three different stages of development



Number of proteins specific to each fraction



Number of proteins identified in individual IEF fraction or common to several fractions

Results

The analysis of total extract and the 5 IEF fractions by both 1DLC and 2DLC-MS/MS allowed the identification of a total of 1330 proteins in the 3 developmental stages.

The combination of IEF separation and short SDS-PAGE migration on 5 fractions led to a strong increase in the number of identified proteins.

- Twice more proteins were identified following "in-gel" prefractionation (1330) compared to the crude total extract (664).
- This approach proved to be quite resolving since more than half of the proteins were found in a single fraction.

In our experimental conditions, the gain corresponding to each LC-MS/MS injection was also measured:

Injection	1 st	2 nd	3 rd	4 th
1DLC	553	+347	+97	+27
2DLC	1150	+12%	+134	

➢ In the 1DLC-MS/MS approach, the first 3 injections offered a profitable gain although the 4th injection poorly increased the total number of proteins.

➢ A single injection 2DLC-MS/MS injection leads to the identification of a higher number of proteins than all 1DLC experiments taken together. The general gain obtained by using a combination of 2DLC and 1DLC compared to 1DLC is of 30%.

About half of the identified proteins were found to be common to the 3 developmental stages while the other half was identified in only one or two stages. A functional analysis of these data is under progress.

Conclusions and Perspectives

In this study, we demonstrate the efficiency of *in-gel* IEF associated with a short SDS-PAGE migration as a fractionation strategy prior to LC-MS/MS analysis for very complex samples. Using this particular approach, we were able to identify twice more proteins out of mice ovarian whole follicles.

Metabolism, transport, cell communication, cell cycle, cellular component organization and developmental process are the major functional categories identified in this study. A detailed comparison of the proteins identified in the 3 stages is under progress in order to highlight some particular proteins or groups of proteins involved in *in vitro* follicle development.

This study was financed by FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia

Communication affichée au 7ème Congrès Annuel de l'European Proteomics Association (EuPA), Saint-Malo, France, 14-17 Octobre 2013

Comparative proteomic analysis of mice ovarian follicles at 3 different stages during *in vitro* development

A. Anastácio¹, S. Chardonnet², C. Pionneau², C. Federici³, C. Poirot¹



¹ UF Biologie de la Reproduction Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, UPMC, Paris 6
² Plateforme Post-génomique de la Pitié-Salpêtrière (P3S) INSERM, UPMC, Paris 6
³ Plateforme 3P5, Institut Cochin, Université Paris-Descartes, Paris 5



Introduction

Woman fertility can be altered by severe medical treatments such as chemotherapy. For fertility preservation, a major outlook is to cryopreserve ovarian tissue and achieve folliculogenesis by *in vitro* culture of secondary follicles isolated from the tissue. The main issue is to optimize *in vitro* culture conditions and to get quality markers of the development process in order to select the best follicles for fertilization.

In the ovary, secondary follicles consist of a central oocyte, blocked in meiosis prophase 1, surrounded by two or more layers of granulosa cells. Along follicle development, granulosa cells proliferate and the oocyte size increases. Identification, molecular characterization and functional elucidation of proteins expressed during *in vitro* follicle development may provide a better understanding of the folliculogenesis process.

Only a few proteomic studies have been performed in this field, mainly focusing on isolated fully grown oocytes. Regarding the major role of interactions between oocytes and their surrounding granulosa cells, the use of whole follicles is a relevant model to investigate protein regulations during the early stages of *in vitro* development.

→ In order to investigate the molecular aspects of *in vitro* folliculogenesis and identify time resolved markers, we engaged a large scale proteomic study on mice cultured follicles using IEF in-gel protein fractionation associated with MudPIT. Three different developmental stages, that are characterized by specific morphological aspects, were qualitatively and quantitatively compared in order to highlight stage specific protein profiles.

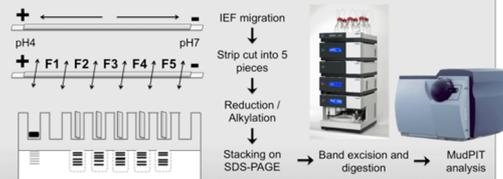
Materials and Methods

- Follicle selection for microdrops system culture (Figure 1)
 Diameter = 100-130µm
 With 2 or more granulosa cells layers, presence of thecal cells & presence of a round and central oocyte
 1043 follicles were isolated at SF stage, 359 at SMR stage and 124 at AF stage
- Protein extraction:
 7M Urea, 2M Thiourea, 1% CHAPS, 0.5% SB3-10, 0.5% Triton X-100, 10% isobutanol
- IEF in-gel fractionation: 100 µg proteins / sample (Figure 2)
 IPG strip 7 cm, pH 4-7, 15000 VH → cut into 5 pieces of 1.2 cm long
 SDS-PAGE: 12% acrylamide, migration in the first 5 mm of the resolving gel
 Coomassie Blue staining, manual cutting of the 5 large bands
- Tryptic digestion and peptide extraction for LC-MS/MS analysis

Figure 1: *In vitro* culture of isolated mice follicles: 3 distinct developmental stages

- 1D (4 runs) and 2DLC-MS/MS (2 runs) were performed on: HPLC Ultimate3000 (Dionex) coupled to an HCTUltra ion trap (Bruker). 1) SCX = 6 salt steps with 0-20-35-50-100 and 1000M ammonium acetate solutions; 2) RP = C18 15 cm, 3 µm, 100Å.
- Protein identification: X!tandem was run using the X!tandem pipeline (<http://gapppp.inra.fr/bioinfo/xtandempipeline/>) with FDR<1% and 1 peptide, p<0.05, protein Evalue < 0.003.
- GO analysis was performed with Panther (<http://www.pantherdb.org/>) and protein network analysis was performed using Ingenuity Pathway Analysis

Figure 2: Experimental procedure used for proteomic analysis



SF: Start culture Follicles / SMR: Slavjanski Membrane Rupture / AF: Antrum Formation follicle

Results

♦ Use of IEF in-gel fractionation prior to MudPIT analysis

MudPIT analysis of the crude protein extracts led to the identification of XXX proteins. In order to reduce sample complexity and increase the number of identified proteins, we performed IEF in-gel fractionation to generate 5 independent fractions based on protein native charge separation. This approach offered a very good resolution since 79% of the proteins were specifically identified in a single fraction. With only 5 fractions, we could identify 3 times more proteins with a total of 1403 (Figure 3).

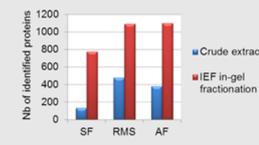


Figure 3: Influence of IEF in-gel fractionation on the number of identified proteins in each fraction



Figure 4: Venn diagram of the number of identified proteins at the 3 stages

♦ Gene Ontology analysis

Among the 1403 proteins, 610 were common to the 3 stages (Figure 4). SMR and AF are the most similar samples with 862 common proteins. This is in accordance with their cellular composition since the number of granulosa cells surrounding the oocyte is much higher at these 2 stages compared to SF.

Gene Ontology analysis of these data highlighted the high abundance of proteins involved in metabolic process, cellular process, transport, cell communication, cell cycle and developmental process. In particular, energy and metabolic process as well as cell cycle, transport and cellular component organization are overrepresented compared to the whole mouse proteome (Figure 5). This is consistent with the high mitotic activity in the granulosa layer and the strong need for cellular communication between oocyte and its surrounding cells.

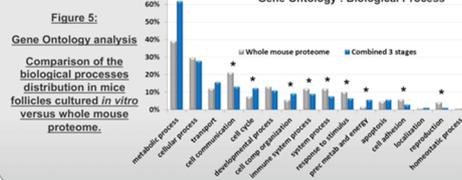


Figure 5: Gene Ontology analysis: Comparison of the biological processes distribution in mice follicles cultured in vitro versus whole mouse proteome

♦ Network analysis in the 3 developmental stages

As shown in figure 4, 71 proteins were identified in SF only, 182 in SMR and 193 in AF. In order to highlight differences between the 3 stages, we compared their protein contents and networks using Ingenuity Pathway Analysis. This analysis brought out in particular neoglucogenesis and cyclin networks.

The evolving pattern of cyclin associated proteins along *in vitro* development is given in fig. 6: 4 proteins involved in cell cycle regulation and DNA repair are detected from SF stage and 7 others appear at SMR stage showing a peak in cell cycle activity at SMR stage. These proteins are not detected anymore at AF stage. On the other hand, the cyclin-dependent kinase inhibitor 1B, which negatively regulates cell cycle through modulation of cyclin type D-CDK4 complex, appears at AF stage. CDKN1B is involved in G1 arrest which coincides with slowing down of granulosa cells mitosis when antrum is formed in the follicle. Those proteins exhibiting a particular expression profile are good candidates to follow up the efficiency of *in vitro* folliculogenesis.



Figure 6: Expression profile of proteins associated to the cyclin network

Conclusions and Perspectives

This study allowed us to highlight several proteins which expression profiles vary along *in vitro* culture of mice ovarian follicles. Proteins involved in neoglucogenesis or cell cycle processes, such as the cell cycle inhibitor CDKN1B, show up as time resolved markers during *in vitro* folliculogenesis which could be used to follow up the proper follicle development. The major goal is to find out markers of follicles quality in order to optimize follicle selection for

fertilization. Further experiments will be performed to establish a correlation between the expression profile of some of these proteins and the quality of cultured follicles in terms of fertility efficiency. Moreover, a further outlook will be to analyze protein expression profile in cryopreserved follicles in order to evaluate the impact of freezing on *in vitro* folliculogenesis on a molecular point of view and eventually point out new specific quality markers.

This study was financed by FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia

Communication Orale au **29th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)**, London, United Kingdom, 7-10 July 2013.

O-036 Comparative proteomic analysis of proteins identified at three different stages of ovarian follicles during in vitro development in mice

A. Anastácio¹, C. Pionneau², S. Chardonnet², T. Almeida Santos³ and C. Poirot¹

+

¹Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien Hôpital Tenon, Service d'Histologie à orientation Biologie de la Reproduction-CECOS, Paris, France

²Hopital Pitié Salpêtrière, Post-Genomic Platform P3S, Paris, France

³University Hospitals of Coimbra, Human Reproduction Service, Coimbra, Portugal

Abstract

Study question Identification and molecular characterization of proteins expressed during follicle development will provide a better understanding of folliculogenesis process. We propose to establish the proteome of isolated mouse ovarian follicles at three different developmental stages during in vitro development: initial stage of culture (IS); Slavjanski membrane rupture (SMR) and antral follicle (AF).

Summary answer More than 1,000 proteins for SMR and AF stages and 838 proteins for IS were identified. Gene Ontology (GO) analysis revealed that several biological processes were over-represented in the three stages when compared with all genome mouse and some processes were over-represented in only one stage.

What is known already Till now the few works using proteomics in this field concern the isolated fully growth oocyte before and after meiosis resume. In 2010 a team published the largest proteome of oocyte at vesicle germinative and metaphase II stages with more than 2,000 proteins identified at each stage. Even if it is known the major importance of interaction between oocyte and their surrounding cells until now any author has studied the proteome of the whole follicle.

Study design, size, duration Ovarian follicles were isolated from 12 day old B6CBA/F1 mice. 1143 IS follicles from 19 females were collected at 7 different times; 1803 secondary follicles from 41 females were cultured in a microdrop under oil system during 9 experiments. From those we selected 359 SMR follicles and 124 AF follicles.

Participants/materials, setting, methods Follicle proteome was analyzed by coupling Isoelectric focusing (IEF) prefractioning with 1D and 2D LC-MS/MS analysis.

Protein identification was performed by X-TANDEM software and SWISSPROT mouse database.

The obtained lists were submitted to the 'Compare gene list' tool in the PANTHER website to insight about the Gene Ontology Biological process.

Main results and the role of chance The combined analysis of 1D and 2D nano LC-MS/MS allowed the identification of 838 proteins to IS, 1,124 to SMR and 1,116 to AF. 53.9% of them were common to the three stages, 2.8% were only identified in IS and 9.4% only at SMR and AF.

Gene Ontology (GO) analysis demonstrated that approximately 20 GO Biological Process were over-represented in the different stages when we compared the submitted list with the all list of mouse genes. Nevertheless some biological processes were over-represented in a single stage. Mitochondrion organization, chromosome segregation and RNA localization are only over-represented in IS, DNA metabolic process and vesicle-mediated transport only in the SMR and porphyrin metabolic process only in the AF.

Limitations, reason for caution The results contain a large list of proteins. Proteins below the detection level of the technique used, will not appear. As such, the absence of a given protein from the list in a specific stage, may signify it is below the detection level and not absent at all.

Wider implications of the findings This study allowed a general view of the proteins that are implicated in the follicle development in vitro and it represents the most complete catalogue of the follicle proteome available so far. Not only well known proteins in the oocyte were identified but also proteins that are probably expressed only in granulosa cells or proteins never described in the female gamete development.

Study funding/competing interest(s) This study was supported by the Foundation for Science and Technology of the Portuguese Ministry of Education and Science grant PhD fellowship SFRH/BD/65299/2009 to AIA.

Article soumis au journal **Reproduction** (le pdf présenté ne contient pas les images et tableaux annexes appartenant à l'article car il sont déjà présents dans le chapitre résultats).



Proteomic profile of mice ovarian follicles at three different developmental stages in vitro

Journal:	<i>Reproduction</i>
Manuscript ID:	Draft
mstype:	Research paper
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	ANASTACIO, Amandine; 1Université Paris VI (UPMC), Service du Professeur Catherine Poirot Service d'Histologie à orientation Biologie de la Reproduction-CECOS Chardonnet, Solenne; Université Paris VI (UPMC), Plateforme Post-Génomique de la PitiéSalpêtrière (P3S) Pionneau, Cedric; Université Paris VI (UPMC), Plateforme Post- Génomique de la PitiéSalpêtrière (P3S) Federici, Christian; Université Paris Descartes, 3P5 Proteomics facility Almeida-Santos, Teresa; University Hospitals of Coimbra, Reproduction Unit Poirot, Catherine; APHP hopital Tenon, CECOS
Keywords:	Ovarian Follicle, In vitro development, Proteomics, Mice

SCHOLARONE™
Manuscripts Only

1 **Proteomic profile of mice ovarian follicles at three different developmental stages *in vitro***

2 Amandine Anastácio*¹, Solenne Chardonnet², Cédric Pionneau², Christian Federici³, Teresa

3 Almeida Santos^{4,5}, Catherine Poirot^{1,6}

4

5 ¹Université Paris VI (UPMC), Paris, France

6 ²Plateforme Post- Génomique de la Pitié Salpêtrière (P3S), Université Paris VI (UPMC), Paris,
7 France

8 ³P5 Proteomicsfacility, Université Paris Descartes, Paris, France

9 ⁴Human Reproduction Department, University Hospital of Coimbra, Coimbra, Portugal

10 ⁵Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal

11 ⁶Service de Biologie de la Reproduction, Hôpital Tenon, Paris, France

12 *Corresponding author

13 Amandine Anastácio

14 Service du Professeur Catherine Poirot

15 Service d'Histologie à orientation Biologie de la Reproduction-CECOS

16 Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien

17 Hôpital Tenon

18 4 rue de la Chine, 75020 Paris, France

19 Tel :(+33) 01 56 01 77 00 Fax : (+33) 01 56 01 78 03

20 Email : amandine@ua.pt

21

22 **Short title: Proteins of mice ovarian follicle *in vitro***

23

24

25

26

27

28 Abstract

29 Follicle is an important cell structure since oocyte development is strictly associated with his
30 surrounding somatic cells. A characterization of follicle proteins can help us to elucidate those
31 that can play an important role on follicle development. Thus, we proposed a protein
32 identification of whole mouse follicle, at three development stages during *in vitro*
33 development: early secondary stage, described as initial stage (IS); follicles with a complete
34 Slavjanski membrane rupture (SMR) and follicles with an antrum like cavity formation (AF).
35 Combining the three protein lists obtained, 1403 different proteins were identified. Cell cycle,
36 protein transport, generation of precursor metabolites and energy, carbohydrate metabolic
37 processes and translation were some of the biological processes over-represented in the three
38 stages of development, when compared to *Musmusculus* gene database. Furthermore, some
39 proteins were identified at one stage only: 71 in IF stage, 182 in SMR stage and 193 in AF stage.
40 Among them, proteins associated to the Cyclin dependent kinases (CDKs) network exhibited a
41 specific profile: 11 out of 12 were identified at SMR stage, including the CDKs themselves,
42 while an inhibitor for CDKs was identified at AF stage only. Additionally, a quantitative analysis
43 of these data highlighted the higher abundance of proteins associated with calcium at SMR
44 stage and of proteins implicated in glycolysis at AF stage.
45 This report represents so far the most complete catalogue of follicle proteins and could be an
46 important milestone in the proteomic study of the follicle metabolism throughout *in vitro*
47 development.

48

49 **Keywords:** Ovarian follicle/*in vitro* development/proteomics/mouse

50

51

52

53 Introduction

54 A competent oocyte is primordial to fertilization. Developmental competence was defined as
55 the capacity of an oocyte to undergo maturation, fertilization and early embryo development
56 (Trounson, et al., 2001). This competence is gained gradually during folliculogenesis, which is a
57 highly complex process with several mechanisms and steps that remain unclear. Since the
58 activation of primordial follicle, and throughout follicular development, important changes
59 occur, such as granulosa and theca cells differentiation and proliferation. Simultaneously the
60 oocyte volume increases and it grows until it reaches the appropriate size to induce nuclear
61 maturation and allow the fertilization and the development of a viable embryo. These
62 processes have several critical steps and involve a cascade of molecular interactions with high
63 transcriptional activity with the synthesis of several new proteins (Eppig, et al., 2005, Gilchrist,
64 et al., 2004, Picton, et al., 1998). Expanding the knowledge on protein expression during these
65 stages, may give important information about the different events occurring in follicle
66 development. Proteomic approaches allow the identification and characterization of proteins
67 that are expressed in a cell. This approach presents several advantages over mRNA expression
68 profiling since the presence of mRNA in a cell is not strictly correlated with protein abundance
69 (Ma, et al., 2008).

70 Over the last decade some groups reported the study of isolated oocytes proteome at
71 different development stages in bovine (Memili, et al., 2007, Peddinti, et al., 2010), pig
72 (Ellederova, et al., 2004, Novak, et al., 2004) and mice (Coonrod, et al., 2002, Ma, et al., 2008,
73 Pfeiffer, et al., 2011, Vitale, et al., 2007, Wang, et al., 2010). Early attempts to provide a list of
74 oocyte's proteins were based on two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-
75 PAGE) and spots identification by mass spectrometry (Calvert, et al., 2003, Coonrod, et al.,
76 2002). Nowadays, multidimensional liquid chromatography separation, coupled to mass
77 spectrometry (MudPIT), has become a very efficient method to study proteomes and identify a
78 large number of proteins particularly when the sample is rare and complex like the mammalian

79 oocyte (Pfeiffer, et al., 2011).

80 In mice, the proteome of fully growth oocyte before and after meiosis resumption has been
81 reported, with an increasingly larger list of proteins at each report. Additionally, comparative
82 studies between germinal vesicle (GV) oocytes, from fully grown follicles, and MII oocytes
83 (Vitale, et al., 2007, Wang, et al., 2010), MII oocytes and zygotes (Wang, et al., 2010) and
84 between MII oocytes and undifferentiated embryonic stem cells (ES) (Pfeiffer, et al., 2011)
85 were also performed.

86 Nonetheless, all these studies report proteins identified from isolated oocytes despite the
87 essential roleplayed by the bidirectional communication between oocyte and its surrounding
88 cells in the follicle, during oocyte development(Matzuk, et al., 2002). Yet, Meng and colleagues
89 reported the identification of 156 proteins from mature mouse cumulus-oocyte
90 complex(Meng, et al., 2007). Although, at this stage of development the cumulus cells are
91 differentiated from previous granulosa cells due to the disruption of intercellular connections
92 and consequent expansion occurred during ovulation (Hawkins and Matzuk, 2010).

93 To the best of our knowledge, no study of the whole follicle proteome has been reported to
94 date. Thus, in order to identify proteins expressed during follicle development, before
95 ovulation, we performed the analysis of protein profile of mice follicles at three specific
96 morphological stages during *in vitro* development.The present report is thus an important
97 milestone in the proteomic study of the follicle metabolism throughout *in vitro* development.

98

99 **Materials and Methods**

100 **Animals and pre-antral follicle isolation and culture**

101 B6CBA/F1 mice (Charles River®, Lyon, France) housed with their mothers in a controlled
102 temperature environment with a 12 h light/dark cycle were used. 120 ovaries were collected
103 from 12 days old mice, killed by cervical dislocation, in a 37°C warmed dissection medium
104 containing Leibovitz's L - 15 media supplemented with 10 % fetal bovine serum (FBS) (Gibco®,

105 Cergy-Pontoise, France), 100 IU/mL penicillin and 100 µg/mL streptomycin (Sigma – Aldrich®,
106 Saint Quentin Fallavier, France). Follicles with a diameter between 100 µm and 130 µm, two or
107 more granulosa cell layers, a round and central oocyte and some adherent theca cells were
108 mechanically dissected using 25 gauge needles (Sherwood Medical®, Evry, France).

109 For individually follicle culture we used a microdrop (10 x 20 µL) system, under oil in an
110 atmosphere 5 % CO₂ at 37°C (Cortvrindt et al, 1996). Culture medium was composed of α-
111 minimal essential medium with glutaMAX (α-MEM GlutaMAX, Gibco®) supplemented with 5 %
112 FBS (Gibco®), 10 µg/mL transferrin (Boehringer Mannheim®, Meylan, France), 5 µg/mL insulin
113 (Boehringer Mannheim®) and 100 mIU/mL recombinant follicle stimulating hormone (rFSH)
114 (MSD®, Puteaux, France). Every day, follicles were measured, half medium renewed and
115 morphological characteristics noted.

116

117 **Preantral follicle selection for proteomic analysis**

118 Proteomic analyses were performed in three distinct groups: (i) 1143 preantral follicles directly
119 selected after isolation, without culture, considered to be the initial stage (IS); (ii) 359 follicles,
120 selected during the culture, presenting a complete Slavjanski membrane rupture (SMR) and (iii)
121 124 follicles with an antral like cavity at the 12th day of culture (AF) (Fig.1). A total of 1803
122 preantral follicles were cultured in 9 independent experiments to compose the SMR and the
123 AF groups. Selected follicles were washed three times in phosphate-buffered saline (PBS)
124 (Gibco-BRL®) dried and stored at -196°C until needed.

125

126 **Protein extraction and fractionation**

127 The majority of products used in the proteomic approach were purchased from Sigma-Aldrich®
128 (Saint Quentin Fallavier, France) and GE Healthcare® (Vélizy, France), those were not are
129 indicated in the text. Protein extraction was performed by adding 15 µL/vial lysis buffer
130 containing 7 M urea, 2 M thiourea, 1 % 3 - [3-cholamidopropyl]dimethylammonio] - 1-

131 propanesulfonate (CHAPS), 0.5 % 3 - (Decyldimethylammonio) propane sulfonate inner salt
132 (SB3 - 10), 0.5 % Triton X 100, 10 % isobutanol, 50 mM dithiothreitol (DTT) and 0.5 % ampholyte
133 3 - 10. After 2 x 5 minutes sonication and 45 minutes of 20,000 xg centrifugation at 4 °C the
134 supernatants were collected. Protein concentration was measured using the
135 Bradford (Bradford, 1976) assay and samples were stored at - 80 °C until use.

136 For each group isoelectrofocusing (IEF) prefractionation was performed with 100 µg of
137 proteins, in an Immobilized pH gradient (IPG) Immobiline DryStrip (7 cm, pH 4 - 7). IEF migration
138 was performed on an Ettan IPGphor II isoelectric focusing system, with a multistep program:
139 50 V for 1 h, 200 V for 1 h, gradient from 200 to 1000 V in 45 min, 1000 V for 45 min, gradient
140 from 1000 to 4000 V in 1 h and finally 4000 V for 3 h. Following isoelectric migration, the strips
141 were first treated 15 minutes with a reduction buffer (6 M Urea, 75 mM Tris pH 8.8, 30 %
142 glycerol, 2 % SDS and 65 mM DTT) followed by 15 minutes in an alkylation buffer (6 M Urea,
143 75 mM Tris pH 8.8, 30 % glycerol, 2 % SDS and 135 mM iodoacetamide) and then cut into 5
144 equal fractions of 1.2 cm long using a scalpel blade. Proteins from each strip fraction were
145 extracted with a short (1 h at 10 mA) migration in a SDS PAGE gel 12 % acrylamide. Gels were
146 stained with Coomassie Blue R - 250 using Imperial Protein Stain (Pierce, Thermo Fischer
147 Scientific, Courtaboeuf, France).

148

149 **In gel tryptic digestion**

150 For each fraction a unique large band was excised and cut into several 1 mm³ cubes. Gel pieces
151 were destained with a 25 mM ammonium bicarbonate (AmBic) - 50 % ethanol solution,
152 dehydrated in acetonitrile (ACN) for 10 minutes and dried at room temperature. Gel slices
153 were then rehydrated with 70 µL of a trypsin solution (200 ng/µL in 50 mM AmBic) on ice for 30
154 minutes and incubated overnight at 37 °C. Supernatants were collected into new tubes and the
155 gel pieces were incubated twice with 60 % ACN in 0.1 % trifluoroacetic acid (TFA) to extract the
156 remaining peptides. The extracts were concentrated in a speed vacuum dryer, resuspended in

157 40 μ L of 30 % ACN with 0.1 % formic acid and stored at - 80°C until MS analysis.

158

159 **1D and 2D LC-MS/MS analysis**

160 Peptide samples were desalted using Zip-Tip C18 pipettes tips, following manufacturer's
161 instructions. Two configurations of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) were
162 used for LC-MS/MS analysis: 1D LC-MS/MS and 2D LC-MS/MS. In 1D configuration, peptide
163 mixtures were concentrated and desalted for 5 min on a precolumn C18 (5 mm, 300 μ m i.d.,
164 100 Å, Dionex) with a mobile phase A1 (2 % ACN/0.1 % formic acid) at a flow rate of 20 μ L/min.
165 Then the peptide mixtures were separated and eluted on an analytical column RP-C18 (15 cm,
166 75 μ m i.d., 100 Å, Dionex) at a flow rate of 200 nL/min using 0 % to 30 % gradient Buffer 1
167 (95 % ACN, 0.1 % AF). In the 2D configuration, peptides were first separated by sequential
168 elution from a silica capillary column strong cation exchanger (SCX, 15mm, 300 μ m i.d.,Dionex)
169 with 20 μ l of 0, 20, 30, 50, 100 and 1000 mM of ammonium acetate. Each one of these salt
170 steps was then treated like the 1D approach. The HPLC was directly coupled to an ion trap
171 mass spectrometer (MS) (HCTultra, Bruker®(Bremen, Germany)) for peptide identification. The
172 ion trap was used in the positive mode with the selection of 8 precursors from each MS
173 spectrum for fragmentation by collision induced dissociation (CID).

174

175 **Protein Identification**

176 MS/MS data were submitted to X-tandem V 3.3.2 using the X!tandem pipeline
177 (<http://pappso.inra.fr/bioinfo/xtandempipeline/>) considering the following parameters:
178 Trypsin as digesting enzyme, Carbamidomethylation of cysteine residues as a fixed
179 modification and methionine oxidation as variable modification, a peptide mass tolerance of
180 0.5 Da and a charge of +1, +2 or +3. Proteins were identified with a false discovery rate (FDR)
181 lower than 1 % with at least 1 unique peptide, a p value < 0.05 for peptides and p value < 0.003
182 for proteins using Uniprot KB mouse databases from June 2012.

183 Gene Ontology (GO) analysis

184 All proteins from each stage were subjected to the PANTHER 8.1 (protein annotation through
185 evolutionary relationship) classification system (<http://www.pantherdb.org>) that is a
186 comprehensive system that combines gene function, ontology, pathways and statistical
187 analysis tools that enable biologists to analyze large-scale, genome-wide data from
188 sequencing, proteomics or gene expression experiments. The proteins of each stage were
189 classified in protein classes and biological processes. The comparative tool to gene base for
190 *Musmusculus* was also used to highlight biological processes over-expressed in our samples.

191

192 Ingenuity pathway analysis (IPA)

193 To gain insights into the biological pathways and networks that are statistically significantly
194 represented in our proteomic datasets we used Ingenuity Pathways Analysis (IPA; Ingenuity
195 Systems, Qiagen Company, Redwood City, CA, USA). IPA selects “focus proteins” to be used for
196 generating biological networks. Focus proteins are the proteins from our datasets that are
197 mapped to corresponding gene objects in the Ingenuity Pathways Knowledgebase (IPKB) and
198 are known to interact with other proteins based on published, peer reviewed content in the
199 IPKB. Based on these interactions IPA builds networks with a size of no more than 35 genes or
200 proteins. A *p*-value for each network and canonical pathway is calculated according to the fit of
201 the user's set of significant genes/proteins. IPA computes a score for each network from the *p*-
202 value that indicates the likelihood of the focus proteins in a network being found together due
203 to chance. We selected only networks scoring ≥ 2 , which have >99% confidence of not being
204 generated by chance. Biological functions are assigned to each network by using annotations
205 from scientific literature and stored in the IPKB. A Fisher exact test is used to calculate the *p*-
206 value determining the probability of each biological function or pathway being assigned by
207 chance. We used $P \leq 0.05$ to select highly significant biological functions and pathways
208 represented in our proteomic datasets. The build function of IPA allows for generating

209 pathways that can complete the data analysis by showing interactions of identified proteins
210 with a specific group of molecules. The Path Designer feature in IPA is used to create pattern
211 graphics that communicate insights from experiments and serve as working models. Path
212 Designer completes the research workflow from data analysis through the creation of images
213 able to suggest a summary of networks selected.

214

215 **Label free quantification**

216 For label-free quantitation, Bruker® raw data files from 1D LC-MS/MS acquisitions were
217 imported into the Progenesis LC –MS software version 4.1.4832.42146 (Nonlinear Dynamics,
218 Newcastle upon Tyne, UK) for feature detection, alignment, and quantitation. For each
219 developmental stage, three replicate samples were aligned according to retention time using a
220 combination of automatic and manual alignment. Peptides peak picking was done with an
221 absolute ion intensity threshold of 100 000, a maximal ion charge state of three and in the
222 retention time range from 25 to 100 minutes. MS/MS peak lists were generated with the 100
223 most intense fragment ion peaks. For a given peptide, only the 5 most intense MS/MS spectra
224 were used to generate MS/MS peak lists, which were exported as mgf files. Protein
225 identification was performed using in-house Mascot software version 2.2.07 (Matrix Science,
226 London, UK) against the *Musmusculus* proteome set (release 2013-05, containing 50807
227 sequences) from SwissProt/Trembl database. The instrument setting was specified as “ESI-
228 Trap”. Parameters used for Mascot search were as follows: a maximum of one missed
229 cleavage; carbamidomethylation of cysteines as a fixed modification and oxidation of
230 methionine as a variable modification; trypsin as the enzyme; a peptide mass tolerance of 0.5
231 Da; a fragment mass tolerance of 0.5 Da. Mascot search results were imported back
232 into Progenesis software to link the identified peptides to the detected abundances of these
233 peptides. Peptide identified with a Mascot score lower than 33 (significance threshold of $p <$
234 0.05) were removed. The protein quantitation was made using non-conflicting peptides. Only

235 proteins with a significant change between the groups (ANOVA p-value < 0.05), a fold change
236 greater than two and having at least two peptides with significant change (ANOVA q-value
237 < 0.05 and fold-change greater than two) were accepted.

238

239 **Results**

240 **Protein identification of follicles developed *in vitro***

241 Three distinct morphological stages of mice ovarian follicle developed *in vitro* were compared
242 using a large scale proteomic approach. Protein extracts from each stage were first
243 fractionated using IEF in-gel fractionation. Six serial injections were performed for each
244 fraction, four in 1D LC-MS/MS and two in 2D LC-MS/MS. This approach allowed us to
245 successfully identify 775 proteins in Initial Stage (IS), 1093 in Slavjanski Rupture Membrane
246 stage (SMR) and 1101 in Antral Follicle stage (AF) (Supplementary data, Table SI).

247 From a total of 1403 different proteins identified, 609 (43.4 %) were common to the three
248 stages. Whilst 348 (24.8 %) were common to two stages of development and some proteins
249 were identified in a single stage: 71 (5.1 %) in IS, 182 (13 %) in SMR and 193 (13.8 %) in AF.

250

251 **Gene Ontology analysis**

252 Proteins identified in each stage were assigned to protein class and biological process using
253 Panther GO analysis. For the three stages GO analysis distributed the hit genes in 22 protein
254 classes. Nucleic binding, with 18 to 22 % of the proteins, was the class with the highest number
255 of proteins attributed in the three stages, followed by hydrolase, oxidoreductase, transferase,
256 enzyme modulator and cytoskeletal proteins (Fig.2A).

257 In biological processes, 488 proteins from IS, 704 from SMR and 673 from AF were assigned to
258 the cluster metabolic process. Cellular process, transport, cell cycle, cell communication and
259 protein transport were the other clusters with most proteins assigned to (Fig.2B). In spite of
260 similar biological process distribution between the stages, some were shown to be

261 predominant in a given stage when compared to the whole *geneMusmusculus*base
262 (Supplementary data, Table SII).

263 At IS stage a total of 77 identified proteins could be matched to cellular component
264 organization, wherein 57 and 7 proteins were assigned to cellular component morphogenesis
265 and mitochondrial transport respectively. These subclusters were over-represented in this
266 stage only, as well as anatomical structure morphogenesis and RNA localization. Within
267 metabolic processes, ferredoxin and pyrimidine metabolic processes were over-represented in
268 SMR stage with 15 and 6 proteins assigned while vitamin metabolic process was most
269 prominent in AF stage. Over 20 others biological processes were significantly over-represented
270 in our three groups of study. These include cell cycle, more specifically mitosis within cellular
271 process, generation of precursor metabolites and energy, protein metabolic processes
272 including protein folding carbohydrate metabolic process, translation and nuclear and protein
273 transport (Supplementary data, Table SII).

274

275 **Protein network analysis**

276 Proteins involved in cell cycle process were highlighted by Ingenuity Pathway Analysis, with a
277 particular focus on acyclin-dependent kinases (CDKs) network. Indeed, twelve proteins,
278 including CDKs and related proteins, exhibit a particular expression in the three groups (Fig.3).
279 We observed that, at IS stage, 4 of those proteins such as S-phase kinase-associated protein 1
280 (SKP1), F-box/WD repeat-containing protein 12 (FBXW12), breast cancer type 2 susceptibility
281 protein homolog (BRCA2) and Ubiquitin-associated protein 2-like (UBAP2L) were identified
282 even if cyclins were not (Fig.3a). At SMR stage, 3 of the 4 cyclins of this network were identified
283 namely CDK 1, 4 and 6. Four other proteins that are directly or indirectly associated to those
284 CDKs were detected at SMR stage, such as CDK5 regulatory subunit-associated protein 3
285 (CDK5RAP3), Forkhead box protein O1 (FOXO 1), UDP-N-acetylglucosamine--peptide N-
286 acetylglucosaminyltransferase 110 kDa subunit (OGT) and fibronectin (FN1), in addition to the

287 four proteins already detected at IS stage (Fig.3b). At AF stage a cyclin-dependent kinase
288 inhibitor 1B (CDKN1B) was identified. Consequently, other proteins connected with this
289 inhibitor and identified in the previous stages were no more observed such as the three CDKs,
290 SKP1/SKP2, FBXW12, BRCA2, FOXO1, OGT and UBAP2L. This illustrated a complete reversal of
291 the CDK network protein profile at this stage (Fig.3c).

292

293 **Analysis of protein abundance in the three developmental stages**

294 Label-free quantification was performed on 1D LC-MS/MS data in order to emphasize
295 abundance protein variations along *in vitro* follicle development. Differential levels of
296 expression were found to be significant for 57 proteins between the three stages (Table I) and
297 were distributed into five distinct abundance profiles (Fig.4).

298 Fifteen proteins had their maximal abundance at IS stage (Fig.4 P1). Of these, eleven had
299 significant variations between this stage and the two others, including seven proteins
300 associated to the oocyte, such as zonapellucida sperm-binding protein 2 and 3 (ZP2 and ZP3),
301 Oocyte-expressed protein homolog (OOEP), KH domain-containing protein 3 (Filia), transducin-
302 like enhancer protein 6 (TLE6), protein-arginine deiminase type-6 (PADI6) and phospholipase
303 A2, group IVC (Pla2g4c). In this same profile type we also observed two proteins with a
304 significant variation between IS and SMR stages but not with AF stage. The two remaining
305 proteins had a significantly lower abundance at AF stage compared to IS and SMR stage.

306 From the five proteins with a highest abundance at SMR stage, that characterized profile 2,
307 three calcium ion binding proteins -calreticulin (CALR), calumenin (CALU) and myosin light
308 polypeptide 6 (MYL6) - were significantly less abundant in the other stages. The two other
309 proteins varied between SMR and AF stage. A gradual increase in protein abundance
310 throughout the stages was the most frequent profile observed with 28 fitting proteins (Fig.4
311 P3). On the opposite, the profile with a lower abundance at SMR stage compared to IS and AF
312 stages, corresponding to two proteins, was the less frequent profile (Fig.4 P4).

313 At AF stage, seven proteins had their maximal abundance with a significant variation between
314 this stage and the other two (Fig.4 P5). Two of them are enzymes implicated in glycolysis:
315 alpha-enolase (ENOA) and phosphoglucomutase-1 (PGM1) and a third one, fatty acid-binding
316 protein (FABP5) is a glucose transporter. A regulatory subunit of the cAMP-dependent protein
317 kinases involved in cAMP signaling in cells named PKAR2B was also particularly abundant at
318 this stage.

319 Moreover, by analyzing the list of 57 proteins differentially expressed, Ingenuity Pathway
320 Analysis suggested that glycolysis was the top canonical pathway with nine proteins involved in
321 this pathway. Eight of them showed a regular increase along follicle development with a
322 maximal expression at AF stage. On the contrary, the remaining one has a maximal expression
323 at IS stage and decrease along the development (Fig. 5).

324

325 Discussion

326 In the female reproduction field, previous proteomic studies have been focused on isolated
327 oocytes (Demant, et al., 2012, Ma, et al., 2008, Pfeiffer, et al., 2011, Wang, et al., 2010, Zhang,
328 et al., 2009) and cumulus oocyte complex (Meng, et al., 2007). However those studies were
329 performed using fully grown germinal vesicle (VG) oocytes obtained after stimulation and/or
330 metaphase II (MII) oocytes with the analysis of the meiosis resumption and the acquisition of
331 development capacity. Meiotic resumption capacity is acquired during oocyte development
332 and is completely dependent on follicle development and on interaction between the different
333 cell types of this structure. Thus, we decided to focus on earlier stages of follicle development
334 and our study is the first large scale proteomic study performed on whole follicles during
335 development *in vitro*.

336 We compared the proteome profile of three distinct stages of mice ovarian follicles grown *in*
337 *vitro*. The choice of the different stages was based on morphological differences observed

338 during *in vitro* development using a microdrop culture system under oil. IS stage, composed by
339 secondary follicles, was the stage chosen for culture initiation. In this type of culture, it is
340 observable an adhesion of the follicle to the support. The high proliferation of granulosa
341 cells, associated to the support adhesion, leads to tridimensional structure loss by rupture of
342 the Slavsjanki membrane. So, in this study, SMR stage was composed by follicles with a
343 complete rupture of the Slavjanski membrane and a diffuse granulosa cells distribution. Finally,
344 the AF stage comprised follicles reaching at least 500 μ m in diameter after 12 days of culture
345 and where the presence of an antrum like cavity was observed. This type of follicle is
346 comparable to Graaffian follicle of the *in vivo* system and it is currently chosen to be
347 stimulated with hCG for maturation in the *in vitro* system.

348 **Protein identification of follicles developed *in vitro***

349 By applying a combined 1D and 2D LC-MS/MS analysis, preceded by in-gel IEF fractionation, we
350 have successfully identified 1403 different proteins in all three stages. Within those proteins,
351 365 were never described in previous proteomic studies on oocyte or cumulus-oocyte complex
352 cells (Demant, et al., 2012, Ma, et al., 2008, Meng, et al., 2007, Pfeiffer, et al., 2011, Wang, et
353 al., 2010, Zhang, et al., 2009) (Supplementary data, Table SIII). We noted an increasing number
354 of previously undescribed proteins with the stage of development, namely 134 at IS, 240 at
355 SMR and 273 at AF. A possible explanation is that most of these proteins may be expressed by
356 granulosa or theca cells, which were not present in those studies. Moreover, since the
357 oocyte / granulosa cells ratio decreases along follicle development, the proportion of proteins
358 originating from granulosa cells versus the oocyte should increase.

359 Of the 897 proteins that were also described in Wang's study (Wang, et al., 2010), 97 were
360 contained in their dataset derived from MII oocytes or zygotes. Since our samples were
361 composed only by VG oocytes, those proteins appeared to be already expressed before
362 meiosis resumption.

363 **Gene Ontology analysis**

364 Similarly to previous studies in the oocyte proteome, metabolic process, cellular process,
365 transport and cell communication are the biological process clusters that have more proteins
366 attributed to (Meng et al. 2007; Ma et al. 2008; Zhang et al. 2009; Wang et al. 2010; Pfeiffer et
367 al. 2011; Demant et al. 2012). However we observed that, compared to the whole
368 *Musmusculus* genome some biological processes were over-represented in our samples with
369 special attention for nuclear and protein transport, mitosis, generation of precursor
370 metabolites and energy, carbohydrate metabolic process, protein folding and translation.
371 These results are consistent with the high proliferation of granulosa cells and the major role of
372 interaction between the granulosa cells and the oocyte, as well as the high levels of
373 transcription at this stage of oocyte development. Despite similar distribution within biological
374 processes, among the three stages, some proteins were identified at a single stage and
375 complementary analysis highlighted differential distribution and expression of proteins
376 between the three stages.

377 **Protein network analysis**

378 Ingenuity Pathway Analysis (IPA) emphasized protein expression variations in functional
379 networks among the stages. During follicle development, the size of the follicle dramatically
380 increases with the proliferation of granulosa and theca cells by mitosis. Indeed proteins with a
381 role in cell cycle, and more specifically concerning mitosis, were over-represented in the three
382 stages. Nevertheless, we observed that, at IS stage, only 4 of the 12 proteins, with expression
383 variation in the CDKs network suggested by IPA were identified. Particularly, the CDKs
384 themselves were not detected. This is consistent with the fact that at this stage the follicle has
385 only a few granulosa cell layers and consequently the mitotic activity is lower than in others
386 stages of development. On the contrary, the highest mitotic activity happens at SMR stage,
387 with an extremely high level of proliferation of granulosa and theca cells. This is underlined by
388 the identification of CDK1, CDK4 and CDK6 only at this stage as well as other eight cyclin
389 partners. At the end of the culture, AF stage, the mitotic activity and consequent proliferation

390 of granulosa cells stabilizes. In terms of protein expression, this has resulted in the detection of one
391 negative regulator of the CDKs, the cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (CDKN1B), also known as
392 p27Kip1. This protein negatively regulates cell cycle through modulation of cyclin type D-CDK4
393 complex (Bayrak and Oktay, 2003, Rajareddy, et al., 2007). Additionally, the SPK1/SPK2
394 complex that is known to be involved in p27kip1 degradation was not identified at this stage
395 although it was detected in the previous stages. All these observations suggested a higher level
396 of this inhibitor, at AF stage, corroborating mitotic activity decline.

397 **Analysis of protein abundance in the three developmental stages**

398 We also identified different levels of expression, between the 3 stages, for 57 proteins. The
399 majority of the proteins more abundant in IS stage are expressed in the oocyte, such as the
400 glycoproteins ZP2 and ZP3 (Epifano, et al., 1995), egg and embryo abundant PAD (PADI6)
401 (Wright, et al., 2003) and 3 protein members of the subcortical maternal complex (SCMC) –
402 OOEP, Filia (KHDC3) and TLE6 (Li, et al., 2008). Although these proteins have been shown to
403 increase along oocyte development (Epifano, et al., 1995, Li, et al., 2008, Wright, et al., 2003,
404 Yurttas, et al., 2010, Zheng and Dean, 2009), their expression decreased when looking for
405 entire follicle during *in vitro* development. This is consistent with the higher representation of
406 oocyte proteins in IS stage follicles, when compared to the later stages where granulosa cells
407 become much more abundant.

408 The focus of this study was the follicle in its global nature to look for potential developmental
409 markers of the entire functional structure, rather than the study of different cell types
410 individually. Interestingly, quantification analysis pointed out to at least two groups of proteins
411 of interest. One bears calcium associated proteins, which is one of the most ubiquitous
412 signaling molecules and controls a wide variety of cellular processes. Calreticulin (CRL) is the
413 major Ca²⁺ - binding chaperone in oocytes (Zhang, et al., 2010). Accumulating evidence found
414 that intracellular free Ca²⁺ plays an important role in regulation of the meiotic maturation of
415 oocytes and early embryonic development (Homa, et al., 1993, Sousa, et al., 1997, Whitaker,

416 2006). Our quantitative analysis of the proteome reveals that this protein, as well as other
417 calcium binding proteins like calumenin (CALU) and myosine light protein 6 (MYL6), were more
418 abundant in SMR stage. This suggests that calcium exchanges in the follicle may have a
419 relevant role at this moment of the development.

420 Quantitative analysis also highlighted the carbohydrate metabolism and particularly glycolysis,
421 which is described as an important pathway for glucose utilization by larger follicles, as an
422 important biological process in follicle development (Collado-Fernandez, et al., 2012, Harris, et
423 al., 2007, Xu, et al., 2009). Glycolysis is required for follicle growth and estradiol secretion and
424 is the main source of ATP in mouse preantral follicles *in vitro* (Boland, et al., 1994, Boland, et
425 al., 1994). We identified several proteins involved in this pathway, such as pyruvate kinase M2
426 (KPYM), PGM1, L-lactate dehydrogenase chain A and B (LDHA, LDHB), Fructose-
427 bisphosphatealdolase A (ALDOA), alpha and gamma enolase (ENOA, ENOG), ADP glucokinase
428 (ADPGK), GAPDH, Triosephosphateisomerase (TPIS), 6-phosphofructokinase type C (K6PP),
429 glucose-6-phosphate (G6PD1) and phosphoglyceratemutase 1 (PGAM1). Quantitative analysis
430 showed a variable abundance for 9 of those proteins throughout follicle development (Table I).
431 The expression of LDHB was maximized at IS stage, while the other eight exhibited an increase
432 in abundance throughout follicle development, achieving a maximum at AF stage. These
433 results illustrate a strong need for energy supply at this stage of *in vitro* development.

434 Another protein with relevant interest, and that was more abundant in AF stage, was PRKAR2B,
435 which is a regulatory subunit of the cAMP-dependent protein kinase (PKA) involved in cAMP
436 signaling. High levels of cAMP within the oocyte are essential to keep the meiotic cycle on hold.
437 Nevertheless, the source of cAMP is still a matter of controversy since one theory suggests that
438 the oocyte generates the inhibitory cAMP on its own (Horner, et al., 2003, Mehlmann, 2005,
439 Mehlmann, et al., 2002), whereas another one claims that meiotic arrest is dependent on the
440 cumulus/granulosa cells for the supply of this inhibitor (Sela-Abramovich, et al., 2006). Higher
441 levels of a protein implicated in cAMP signaling at AF stage suggest that this protein is likely to

442 be produced in the granulosa cells, since at this stage, in our samples, we have a higher
443 number of granulosa cells compared to the other stages.

444

445 **Conclusion**

446 The results presented herein represent, so far, the most complete catalogue of the follicle
447 proteome. The comparative analysis of the three distinct morphological stages of follicles
448 allowed us to highlight several functional groups of proteins exhibiting differential expression
449 along *in vitro* development. The combination of qualitative and quantitative analyses pointed
450 out specific expression patterns for proteins associated with the CDK network, glycolysis,
451 calcium binding and regulation as well as a regulatory subunit of PKA. Further complementary
452 studies should follow to understand specific activation of developmental pathways allow
453 follicle development and maturation.

454

455 **Funding**

456 This study was supported by the Foundation for Science and Technology of the Portuguese
457 Ministry of Education and Science - PhD fellowship SFRH/BD/65299/2009 to A.A.

458 The authors of the study have no conflict of interest to report.

459

460 **References**

461 Bayrak A and Oktay K. The expression of cyclin-dependent kinase inhibitors p15, p16, p21, and
462 p27 during ovarian follicle growth initiation in the mouse. *Reproductive biology and*
463 *endocrinology* : RB&E 2003; **1**:41.

464 Boland NI, Humpherson PG, Leese HJ and Gosden RG. Characterization of follicular energy
465 metabolism. *Hum Reprod* 1994; **9**:604-609.

- 466 Boland NI, Humpherson PG, Leese HJ and Gosden RG. The effect of glucose metabolism on
467 murine follicle development and steroidogenesis in vitro. *Hum Reprod* 1994; **9**:617-623.
- 468 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of
469 protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 1976; **72**:248-254.
- 470 Calvert ME, Digilio LC, Herr JC and Coonrod SA. Oolemmal proteomics--identification of highly
471 abundant heat shock proteins and molecular chaperones in the mature mouse egg and their
472 localization on the plasma membrane. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* 2003;
473 **1**:27.
- 474 Collado-Fernandez E, Picton HM and Dumollard R. Metabolism throughout follicle and oocyte
475 development in mammals. *The International journal of developmental biology* 2012; **56**:799-
476 808.
- 477 Coonrod SA, Wright PW and Herr JC. Oolemmal proteomics. *Journal of reproductive*
478 *immunology* 2002; **53**:55-65.
- 479 Demant M, Trapphoff T, Frohlich T, Arnold GJ and Eichenlaub-Ritter U. Vitrification at the pre-
480 antral stage transiently alters inner mitochondrial membrane potential but proteome of in
481 vitro grown and matured mouse oocytes appears unaffected. *Hum Reprod* 2012; **27**:1096-
482 1111.
- 483 Ellederova Z, Halada P, Man P, Kubelka M, Motlik J and Kovarova H. Protein patterns of pig
484 oocytes during in vitro maturation. *Biology of reproduction* 2004; **71**:1533-1539.
- 485 Epifano O, Liang LF, Familiarì M, Moos MC, Jr. and Dean J. Coordinate expression of the three
486 zona pellucida genes during mouse oogenesis. *Development* 1995; **121**:1947-1956.
- 487 Eppig JJ, Pendola FL, Wigglesworth K and Pendola JK. Mouse oocytes regulate metabolic
488 cooperativity between granulosa cells and oocytes: amino acid transport. *Biology of*

- 489 *reproduction* 2005; **73**:351-357.
- 490 Gilchrist RB, Ritter LJ and Armstrong DT. Oocyte-somatic cell interactions during follicle
491 development in mammals. *Animal reproduction science* 2004; **82-83**:431-446.
- 492 Harris SE, Adriaens I, Leese HJ, Gosden RG and Picton HM. Carbohydrate metabolism by
493 murine ovarian follicles and oocytes grown in vitro. *Reproduction* 2007; **134**:415-424.
- 494 Hawkins SM and Matzuk MM. Oocyte-somatic cell communication and microRNA function in
495 the ovary. *Annales d'endocrinologie* 2010; **71**:144-148.
- 496 Homa ST, Carroll J and Swann K. The role of calcium in mammalian oocyte maturation and egg
497 activation. *Hum Reprod* 1993; **8**:1274-1281.
- 498 Horner K, Livera G, Hinckley M, Trinh K, Storm D and Conti M. Rodent oocytes express an
499 active adenylyl cyclase required for meiotic arrest. *Developmental biology* 2003; **258**:385-396.
- 500 Li L, Baibakov B and Dean J. A subcortical maternal complex essential for preimplantation
501 mouse embryogenesis. *Developmental cell* 2008; **15**:416-425.
- 502 Ma M, Guo X, Wang F, Zhao C, Liu Z, Shi Z, Wang Y, Zhang P, Zhang K, Wang N et al. Protein
503 expression profile of the mouse metaphase-II oocyte. *Journal of proteome research* 2008;
504 **7**:4821-4830.
- 505 Matzuk MM, Burns KH, Viveiros MM and Eppig JJ. Intercellular communication in the
506 mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science* 2002; **296**:2178-2180.
- 507 Mehlmann LM. Stops and starts in mammalian oocytes: recent advances in understanding the
508 regulation of meiotic arrest and oocyte maturation. *Reproduction* 2005; **130**:791-799.
- 509 Mehlmann LM, Jones TL and Jaffe LA. Meiotic arrest in the mouse follicle maintained by a Gs
510 protein in the oocyte. *Science* 2002; **297**:1343-1345.
- 511 Memili E, Peddinti D, Shack LA, Nanduri B, McCarthy F, Sagirkaya H and Burgess SC. Bovine

- 512 germinal vesicle oocyte and cumulus cell proteomics. *Reproduction* 2007; **133**:1107-1120.
- 513 Meng Y, Liu XH, Ma X, Shen Y, Fan L, Leng J, Liu JY and Sha JH. The protein profile of mouse
514 mature cumulus-oocyte complex. *Biochimica et biophysica acta* 2007; **1774**:1477-1490.
- 515 Novak S, Paradis F, Savard C, Tremblay K and Sirard MA. Identification of porcine oocyte
516 proteins that are associated with somatic cell nuclei after co-incubation. *Biology of
517 reproduction* 2004; **71**:1279-1289.
- 518 Peddinti D, Memili E and Burgess SC. Proteomics-based systems biology modeling of bovine
519 germinal vesicle stage oocyte and cumulus cell interaction. *PLoS one* 2010; **5**:e11240.
- 520 Pfeiffer MJ, Siatkowski M, Paudel Y, Balbach ST, Baeumer N, Crosetto N, Drexler HC, Fuellen G
521 and Boiani M. Proteomic analysis of mouse oocytes reveals 28 candidate factors of the
522 "reprogrammome". *Journal of proteome research* 2011; **10**:2140-2153.
- 523 Picton H, Briggs D and Gosden R. The molecular basis of oocyte growth and development.
524 *Molecular and cellular endocrinology* 1998; **145**:27-37.
- 525 Rajareddy S, Reddy P, Du C, Liu L, Jagarlamudi K, Tang W, Shen Y, Berthet C, Peng SL, Kaldis P et
526 al. p27kip1 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) controls ovarian development by
527 suppressing follicle endowment and activation and promoting follicle atresia in mice. *Mol
528 Endocrinol* 2007; **21**:2189-2202.
- 529 Sela-Abramovich S, Edry I, Galiani D, Nevo N and Dekel N. Disruption of gap junctional
530 communication within the ovarian follicle induces oocyte maturation. *Endocrinology* 2006;
531 **147**:2280-2286.
- 532 Sousa M, Barros A, Silva J and Tesarik J. Developmental changes in calcium content of
533 ultrastructurally distinct subcellular compartments of preimplantation human embryos.
534 *Molecular human reproduction* 1997; **3**:83-90.

- 535 Trounson A, Anderiesz C and Jones G. Maturation of human oocytes in vitro and their
536 developmental competence. *Reproduction* 2001; **121**:51-75.
- 537 Vitale AM, Calvert ME, Mallavarapu M, Yurttas P, Perlin J, Herr J and Coonrod S. Proteomic
538 profiling of murine oocyte maturation. *Molecular reproduction and development* 2007; **74**:608-
539 616.
- 540 Wang S, Kou Z, Jing Z, Zhang Y, Guo X, Dong M, Wilmut I and Gao S. Proteome of mouse
541 oocytes at different developmental stages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of*
542 *the United States of America* 2010; **107**:17639-17644.
- 543 Whitaker M. Calcium at fertilization and in early development. *Physiological reviews* 2006;
544 **86**:25-88.
- 545 Wright PW, Bolling LC, Calvert ME, Sarmiento OF, Berkeley EV, Shea MC, Hao Z, Jayes FC, Bush
546 LA, Shetty J et al. ePAD, an oocyte and early embryo-abundant peptidylarginine deiminase-like
547 protein that localizes to egg cytoplasmic sheets. *Developmental biology* 2003; **256**:73-88.
- 548 Xu M, Barrett SL, West-Farrell E, Kondapalli LA, Kiesewetter SE, Shea LD and Woodruff TK. In
549 vitro grown human ovarian follicles from cancer patients support oocyte growth. *Hum Reprod*
550 2009; **24**:2531-2540.
- 551 Yurttas P, Morency E and Coonrod SA. Use of proteomics to identify highly abundant maternal
552 factors that drive the egg-to-embryo transition. *Reproduction* 2010; **139**:809-823.
- 553 Zhang DX, Li XP, Sun SC, Shen XH, Cui XS and Kim NH. Involvement of ER-calreticulin-Ca²⁺
554 signaling in the regulation of porcine oocyte meiotic maturation and maternal gene
555 expression. *Molecular reproduction and development* 2010; **77**:462-471.
- 556 Zhang P, Ni X, Guo Y, Guo X, Wang Y, Zhou Z, Huo R and Sha J. Proteomic-based identification
557 of maternal proteins in mature mouse oocytes. *BMC genomics* 2009; **10**:348.

558 Zheng P and Dean J. Role of Filia, a maternal effect gene, in maintaining euploidy during
559 cleavage-stage mouse embryogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*
560 *United States of America* 2009; **106**:7473-7478.

561

562



IX. Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique de l'organisation interne de l'ovaire ainsi que des follicules aux différents stades de leur développement (adaptée de http://apbrwww5.apsu.edu).....	14
Figure 2 : Diagramme de la réserve ovarienne et devenir des follicules au long de la vie de la femme (adapté de Kaipia et al. 1997).	16
Figure 3 : Courbe descriptive de l'évolution du nombre de follicules constituant la réserve ovarienne avec l'âge (adapté de te Velde et al. 1998).....	16
Figure 4 : Représentation schématique des différentes phases de l'ovogenèse (adapté de http://www.as.miami.edu)	17
Figure 5 : Migration des cellules germinales chez les Mammifères. Les cellules germinales primitives migrent depuis le sac vitellin jusqu'aux crêtes germinales, via l'allantoïde (adapté de http://www.snv.jussieu.fr).	18
Figure 6 : Représentation schématique de l'hypothèse des taux de cAMP dans le blocage et reprise de la méiose dans l'ovocyte (adapté de https://www.bioscience.org).....	22
Figure 7 : Coupes histologiques des différents types morphologiques folliculaires : a) follicule primaire; b) follicule primaire; c) follicule secondaire; d) follicule antral (début antrum) et e) follicule pré ovulatoire ou follicule de De Graaf (adapté de http://www.studyblue.com).....	26
Figure 8 : Voie de signalisation proposée pour l'activation des follicules primordiaux et le maintien de la réserve ovarienne (adapté de Kim 2012).	28
Figure 9 : Schéma de l'influence de quelques facteurs dans les différents stades du développement folliculaire. En rose les facteurs produits/présents dans les cellules germinales et en violet ceux produits/présents dans les cellules somatiques (adapté de Sanchez et al. 2012).....	31
Figure 10 : Représentation schématique des différents évènements qui ont lieu en parallèle au cours du cycle menstruel : A) courbes des taux de gonadotrophines ; B) évènements dans l'ovaire ; C) courbes des taux d'hormones ovariennes et D) l'influence dans l'endomètre (adapté de http://9e.devbio.com).	33
Figure 11 : Schéma représentatif des différentes étapes de la croissance folliculaire (adapté de Gougeon 2010).....	34

- Figure 12** : Résumé des paramètres à prendre en compte pour la croissance et maturation *in vitro* d'ovocytes chez les mammifères selon Picton (Picton et al. 2003). Les paramètres sont à adapter selon les différentes étapes de culture . **36**
- Figure 13** : Croissance *in vitro* de follicules secondaires dans un système en phase liquide (2D). A) illustration de la perte de la structure tridimensionnelle du follicule et réorganisation des cellules (adapté de West et al. 2007b). B) images de la croissance folliculaire le jour de la mise en culture J0 (i) ; après 4 jours de croissance *in vitro* avec les cellules de la thèque étalées sur le support (ii) ; et follicule en fin de culture J12 avec la présence d'une cavité antrum-like * (iii) Barre d'échelle =100 μm **41**
- Figure 14** : Croissance *in vitro* de follicules secondaires dans un système de capsules de matrice d'hydrogel (3D). A) illustration du maintien de la structure tridimensionnelle du follicule et interaction avec les cellules somatiques (adaptée de West et al. 2007b) B) images de la croissance folliculaire au jour de la mise en culture J0 (i) ; après 4 jours de croissance *in vitro* avec une augmentation de taille (ii) ; et follicule en fin de culture J12 (iii) (adapté de Xu et al. 2006a). Barre d'échelle =100 μm **43**
- Figure 15** : Développement *in vitro* de follicules humains, en 3 phases.(a) Schéma des différentes étapes de la culture des follicules primordiaux jusqu'au stade de follicule à antrum (i-ii) extraction des complexes ovocyte-cellules du cumulus pour croissance et développement en membrane d'alginate (iii) et maturation *in vitro* (MIV) des complexes cumulus ovocytaires (CCO). Le schéma proposé a permis d'observer la croissance de follicules primordiaux (b) en follicules secondaires (c) et en follicules à antrum (d) dans un milieu de culture sans sérum (adapté de Telfer et al. 2008)..... **46**
- Figure 16** : Images du développement de follicules ovariens humains en capsule d'alginate (Xu et al. 2009). (A) un follicule humain sans culture en comparaison avec (B) un follicule de caractéristiques similaires après 14 jours de culture en capsule d'alginate. (C) follicule en culture depuis 15 jours avec formation d'un antrum et d'un CCO central et D) un follicule où le maintien de la structure 3D est bien visible. Barre d'échelle =100 μm **47**
- Figure 17** : Contexte biochimique du protéome. **48**
- Figure 18** : Représentation du principe d'un gel 1D SDS-PAGE (Liebler 2002)..... **52**

- Figure 19** : Principe du fractionnement IEF OFFGEL. A) Dépôt d'un même volume d'extrait protéique dans les trois puits ; B) migration des protéines qui pénètrent dans la strip, migrent en fonction de leur charge native puis diffusent dans le puits correspondant à leur point isoélectrique ; C) Chaque fraction contient un pool de protéines dont le pI correspond à la zone de pH couverte par le puits sur la strip. 53
- Figure 20** : Représentation du principe de séparation par de la 2D SDS-PAGE (Liebler 2002). 54
- Figure 21** : Structure de base d'un spectromètre de masse. 56
- Figure 22** : La source MALDI ionise, sous l'effet d'un laser, des analytes en phase solide qui sont co-cristallisés avec une matrice sensible à la longueur d'onde du laser. Cette source génère des ions majoritairement monochargés ($z=1$) (image repris de <http://fr.academic.ru/dic.nsf/frwiki/1094130>). 56
- Figure 23** : Source ElectroSpray (ESI) génère des ions à l'état gazeux à partir d'un échantillon liquide grâce à un spray d'électronébulisation. Elle produit des ions principalement multichargés (image reprise de <http://www.lamondlab.com>). 57
- Figure 24** : Boîte de culture folliculaire 69
- Figure 25** : Ovulation *in vitro* après induction avec hCG (a), à l'intérieur du cercle le CCO et à l'opposé les cellules de la granulosa; b) ovocyte mature avec expulsion du premier globule polaire..... 70
- Figure 26** : Différents stades de développement choisis pour l'étude du protéome des follicules au cours de la culture folliculaire : IS (follicule en début de culture), RMS (follicule présentant une rupture complète de la membrane de Slavjanski) et FA (follicule avec une cavité similaire à l'antrum)..... 71
- Figure 27** : Evolution des tailles moyennes des follicules mis en culture en utilisant 3 différents milieux 74
- Figure 28** : Image du gel SDS PAGE effectué avec l'extrait total (ET) et les trois fractions (F1, F2 et F3) obtenues après le préfractionnement IEF OFFGEL. Les rectangles jaunes mettent en évidence des protéines présentes dans l'ET et dans une seule fraction ; les rectangles rouges soulignent la présence d'une bande de protéines dans une fraction mais non visible dans l'ET et finalement l'intensification du signal protéique dans une fraction par rapport à l'ET est illustrée par les rectangles noirs..... 79

- Figure 29:** Image représentative du Principe du fractionnement IEF OFFGEL.
Démonstration de ce que les puits n'étaient pas adjacents dans notre modèle d'étude, ayant ainsi des pertes de protéines restées dans la strip aux endroits où il n'y avait pas cupule. 80
- Figure 30 :** Schéma du principe de la migration IEF. a) migration de l'ET sur toute la strip IPG. b) découpage des 5 fractions et c) migration rapide pour extraire les protéines des strips..... 82
- Figure 31 :** Images des gels SDS PAGE après une courte migration pour les différents stades de développement avec l'obtention des 5 fractions. 82
- Figure 32 :** Schéma i) de l'extraction d'une bande unique pour chaque fraction après une rapide migration en gel SDS PAGE; ii) du découpage en petits cubes et iii) de la préparation pour décoloration des bouts de gels avant la digestion. 83
- Figure 33 :** a) Spectre MS avec la sélection automatique des 8 précurseurs les plus abondants (en rouge) et b) Spectre MS/MS, montrant le résultat de la fragmentation du peptide de masse sur charge (m/z) =833,4 Da, permettant l'identification de la séquence en acides aminés, FVTNTPNFAV(en bleu) composant le peptide 85
- Figure 34 :** Analyse de l'avantage et qualité du préfractionnement de l'extrait protéique avant digestion. A) nombre de protéines identifiées dans l'extrait total, fractions et en combinant les fractions et l'extrait total. B) Pourcentage de protéines identifiées dans une seule fraction ainsi que en commun dans 2, 3, 4 et 5 fractions. 91
- Figure 35 :** Graphique et tableau du nombre de protéines identifiées à chaque stade avec la configuration 1D (orange), 2D (rose) et en bleu le nombre de protéines identifiées en combinant les deux configurations (1D + 2D). 92
- Figure 36 :** Diagramme de Venn résumant la répartition des protéines identifiées aux différents stades du développement folliculaire. Le cercle vert correspond au nombre de protéines au stade IS, avec mise en évidence (dans le rectangle vert) des 71 protéines uniquement identifiées à ce stade ; dans le cercle bleu celles identifiées au stade RMS et dans le cercle violet les protéines identifiées au stade FA ; au centre le nombre de protéines communes aux trois stades ; et en noir, celles communes à deux stades de développement..... 93

-
- Figure 37** : Distribution des protéines identifiées dans chaque stade par classes avec l'analyse Panther. 94
- Figure 38** : Distribution des protéines identifiées, aux trois stades de développement, par processus biologique. 95
- Figure 39** : Groupes de protéines identifiées dans les trois stades liés à la réparation de l'ADN (A) et à la formation de ROS (B). Les protéines identifiées à un stade donné sont représentées avec un fond blanc tandis que celles absentes ont un fond coloré. 97
- Figure 40** : Réseau d'interaction associé aux CDKs suggéré par l'analyse IPA avec mise en évidence des protéines différemment identifiées entre les trois stades IS, RMS et FA. Les protéines entourées en vert étaient identifiées au stade correspondant et en rouge celles non identifiées. 99
- Figure 41** : Illustration des différents profils observés selon l'abondance des protéines au long du développement folliculaire *in vitro*. Profil 1 : (P1) 15 protéines plus abondantes à IS. Profil 2 : (P2) 5 protéines plus abondantes à RMS. Profil 3 : (P3) 28 protéines avec une abondance croissante au long du développement folliculaire. Profil 4 (P4) 2 protéines significativement moins abondantes à RMS par rapport à IS et FA. Profil 5 : (P5) 7 protéines significativement plus abondantes au stade FA par rapport aux stades IS et RMS. 101
- Figure 42** : Profils des neuf protéines impliquées dans la glycolyse, avec une abondance significativement différente entre les trois stades. En rouge, les 8 protéines avec une abondance croissante au long du développement folliculaire. En bleu la protéine LDHB, dont l'abondance décroît durant le développement folliculaire. 102

X. Liste des Tableaux

- Tableau I:** Résumé des principaux résultats obtenus pour la culture de follicules ovariens humains, utilisant soit du tissu frais (F) soit après cryoconservation (C) en fonction du système de culture *in situ* (■) ou de follicules isolés (■) et du stade folliculaire. 45
- Tableau II :** Composition des 3 différents milieux de culture et le milieu de maturation pour l'induction de l'ovulation..... 73
- Tableau III :** Résultats de la culture en fonction paramètres utilisés pour évaluer la croissance folliculaire *in vitro* dans les 3 milieux de culture : taux d'adhésion des follicules au support de culture ; taux de rupture de la membrane de Slavjanski ; taux d'extrusion ovocytaire (EO) ; taux de formation de cavités antrum like ; taux de survie ; taux d'expulsion du complexe cumulus-ovocytaire (CCO), correspondant à l'ovulation et taux d'ovocytes matures obtenu (MII)... 75
- Tableau IV:** Nombre de follicules, souris femelles, portées et manipulations nécessaires pour obtenir la quantité de protéines qui permettait les analyses protéomiques. Dans ce tableau il est ainsi indiqué les tailles moyennes des follicules composant chaque groupe et le jour de la culture auquel les recueils des follicules ont été faits. 90
- Tableau I en annexe :** Liste des protéines identifiées pour les trois stades de développement utilisant le comparateur de données XTandem. "**log (e-value)**" est la valeur statistique de la probabilité qu'une protéine a d'être identifiée au hasard, et il est le produit des e-values des peptides uniques identifiés dans chaque protéine. Les protéines validées ont un log e-value < -2,5. "**Spectres**" correspond au nombre de spectres que l'analyse MS/MS a identifié pour chaque protéine. "**Pep Specif Uniq**" correspond au nombre de peptides spécifiques à la protéine identifiée par rapport aux protéines identifiées du même groupe. "**Pep Uniq**" correspond au nombre de sequences peptidiques identifiés pour chaque protéine éliminant les répétitions. 137
- Tableau II en annexe :** Liste des fonctions biologiques surreprésentées dans un, deux ou dans les trois stades de développement comparant avec la représentation de ces mêmes fonctions biologiques dans la totalité du génome de *Mus musculus*. Les chiffres entre parenthèses correspondent au nombre total de gènes ou protéines reconnues par la base de données de PANTHER 174
- Tableau III en annexe :** Tableau des protéines présentant une abondance significativement différente entre les trois stades de développement. Le ratio et

l'ANOVA ont été calculés avec les abondances maximales et minimales calculées pour chaque protéine. Le score de la protéine est l'addition des scores des peptides, composant la protéine, identifiés par MASCOT. La figure 41 illustre le comportement de l'abondance normalisée de chaque protéine distribué dans les 5 types de profils (P1 à P5). **177**

Tableau IV en annexe : Liste de protéines non identifiées dans le protéome de l'ovocyte isolé. Sur le coté indication si la protéine en cause a été identifiée dans un seul stade et lequel, ou si elle a été identifiée en commun avec un autre stade. **180**

Résumé

Alors que le protéome de l'ovocyte isolé, aux stades VG et MII a déjà été étudié, celui du follicule en croissance n'a jamais été décrit.

Dans cette étude, nous avons cherché à identifier, comparer et caractériser les profils protéiques de follicules ovariens de souris à trois stades de leur développement *in vitro* distincts morphologiquement : follicules secondaires en début de culture - stade initial (IS), follicules avec une rupture complète de la membrane de Slavjanski (RMS) et follicules avec une cavité similaire à l'antrum (FA).

Après un préfractionnement par IEF et une analyse LC-MS/MS en deux configurations (1D et 2D), 1403 protéines ont pu être identifiées dans le follicule ovarien de souris. 43,4 % (609) des protéines identifiées étaient communes aux trois stades et d'autres ont été identifiées uniquement à un stade : 71 au stade IS, 182 au stade RMS et 193 au stade FA. De plus, on a identifié 365 protéines qui n'avaient pas été décrites antérieurement dans le protéome de l'ovocyte ce qui pourrait indiquer qu'elles sont exprimées dans les cellules somatiques du follicule. Des analyses qualitatives et quantitatives complémentaires ont démontré une surreprésentation pour 44 fonctions biologiques par rapport aux fonctions biologiques des gènes constituant le génome de *Mus musculus* et mis en évidence des différences d'expression et d'abondance des protéines liées au cycle cellulaire, à la fixation des ions de calcium et à la glycolyse selon le stade de développement. Ces résultats représentent un point de départ pour beaucoup d'autres études de caractérisation moléculaire du développement folliculaire.

Mots clés : follicule ovarien/développement *in vitro*/préfractionnement IEF/1D et 2D LC-MS MS /souris

Abstract

Until now only the proteome of isolated oocyte from fully grown follicle were described with the aim of oocyte maturation characterization. However the ability of oocyte to mature is acquired during its development within the follicle. Thus in this study we proposed a protein identification and characterization of whole mice ovarian follicle at three morphological stages during *in vitro* development: early secondary stage, described as initial stage (IS); follicles with a complete Slavjanski membrane rupture (RMS) and follicles with an antrum like cavity formation (FA).

Using an IEF pre fractionation before protein digestion and two configurations of LC-MS/MS analysis (1D and 2D), 1403 proteins were successfully identified in the murine ovarian follicle. From those, 43.4 % (609) were commonly identified in the three stages and some were identified only at one single stage: 71 at IS stage, 182 at RMS stage and 193 at FA stage. Compared to the proteomes of isolated oocyte previously described, 365 proteins were only identified in our samples indicating that those ones were probably expressed in the somatic cells of the follicle. Additional qualitative and quantitative analysis highlighted 44 biological processes over represented in our samples when compared to *Mus musculus* gene database and different expressions and protein abundance implicated in cell cycle, calcium ion binding and glycolysis, throughout *in vitro* follicle development.

This report represents so far the most complete catalogue of follicle proteins and could be an important milestone in the proteomic study of the follicle metabolism throughout *in vitro* development.

Keywords: ovarian follicle/*in vitro* growth/IEF pre fractionation/1D and 2D LC-MS MS /mice