

Université de Montréal

Application de la protéomique pour estimer le sexe d'individus archéologiques : exploration
méthodologique sur trois cimetières historiques euro-québécois

Par
Jade Parent

Département d'anthropologie, Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise ès sciences en anthropologie

29 août 2023

© Jade Parent, 2023

Université de Montréal

Département d'anthropologie, Faculté des Arts et Sciences

Ce mémoire intitulé

**Application de la protéomique pour estimer le sexe d'individus archéologiques :
exploration méthodologique sur trois cimetières historiques euro-québécois**

Présenté par

Jade Parent

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Michelle Drapeau
Président-rapporteur

Isabelle Ribot
Directeur de recherche

Tagnon Missihoun
Codirecteur

Brad Loewen
Membre du jury

Résumé

Afin de pallier le manque de précision dans l'estimation du sexe via les méthodes morphologiques, surtout dans le cas des juvéniles, diverses méthodes basées sur la génétique ont été appliquées en bioarchéologie. Outre l'analyse de l'ADN ancien, la présence dans l'émail de certaines protéines associées au sexe, telle que l'amélogénine, permet d'apporter des informations hautement précises. Le présent mémoire a donc pour objectif d'appliquer cette méthode sur un échantillon archéologique issu de trois cimetières euro-qubécois en vue de comparer les résultats avec les données ostéologiques antérieures. Afin d'extraire l'amélogénine, l'émail de molaires de 47 individus a subi une abrasion minimale à l'acide et les échantillons extraits ont ensuite été analysés au spectromètre de masse. Les résultats indiquant la présence ou l'absence de différentes chaînes de peptides (N = 40) associées au chromosome X (AMELX) ou au chromosome Y (AMELY), nous ont permis d'estimer le sexe de chaque individu (masculin = présence d'au moins une des 18 chaînes de peptides d'AMELY; féminin = absence de chaînes de peptides d'AMELY). Les résultats issus de la protéomique sont presque tous en accord (85 %) avec les données ostéologiques. Pour les individus adultes (N = 24), l'accord inter-méthodologique est presque parfait et hautement significatif. Pour les individus juvéniles, les résultats ont été soit confirmés (N = 10), modifiés (N = 6) ou attribués (N = 7) par la protéomique. Dans notre échantillon, on remarque qu'il y a plus de femmes et de filles que d'hommes et de garçons. L'apport de données protéomiques pour l'estimation du sexe des juvéniles est non négligeable et propose des avenues de recherches intéressantes pour les futures analyses qui concernent la mortalité reliée au sexe dont celle des enfants.

Mots-clés : Bioarchéologie, protéomique, amélogénine, émail, sexe, mortalité, juvéniles, euro-canadiens.

Abstract

In order to compensate for the lack of accuracy for sex estimation especially for juveniles, various methods based on genetics were applied in bioarchaeology. Apart from ancient DNA, the presence of some sex-related proteins such as the amelogenin in tooth enamel can yield precise information in this regard. The objective of this thesis was therefore to apply this method on an archaeological sample originating from three euro-Canadian cemeteries, in order to compare the results with those obtained from the previous osteological data. To extract amelogenin the enamel of molars sampled from 47 individuals went through a minimal abrasion using acid and the sample was then analyzed by mass spectrometry. The results indicated the presence or absence of different peptide chains (N = 40) associated with the X (AMELX) or Y (AMELY) chromosome, allowing us to estimate the sex of each individual (male = presence of at least one of the 18 Y-coding peptide chains; female = absence of Y-coding peptide chains). The results from proteomics were almost completely in agreement (85 %) with the osteological data. For the adults (N= 24), the inter-methodological agreement was nearly perfect and highly significant. For the juveniles, the results were either confirmed (N = 10), modified (N = 6) or even assigned for the first time (N = 7) by proteomics. In our sample, there are more women and girls than men and boys. The proteomic analysis brings substantial data for both adults and children sex determination and provide interesting research avenues for the future analysis of mortality linked to sex, especially for juvenile samples.

Keywords: Bioarchaeology, proteomics, amelogenin, enamel, sex, mortality, children, euro-Canadians.

Table des matières

RÉSUMÉ	3
ABSTRACT	4
TABLE DES MATIÈRES	5
LISTE DES TABLEAUX	9
LISTE DES FIGURES	11
LISTE DES ABRÉVIATIONS	13
LEXIQUE	15
REMERCIEMENTS	17
INTRODUCTION	18
CHAPITRE 1 — CADRE CONTEXTUEL	20
1.1 L'IMPORTANCE DE L'ESTIMATION DU SEXE DANS L'ANALYSE BIOARCHÉOLOGIQUE.....	20
1.1.1 <i>Mortalité différentielle</i>	21
1.2 LA MORT EN CONTEXTE EURO-QUÉBÉCOIS.....	21
1.2.1 <i>Pratiques funéraires</i>	21
1.2.2 <i>La mort et le sexe en contexte euro-québécois</i>	23
1.2.3 <i>La mort et l'âge en contexte euro-québécois : le cas des juvéniles</i>	24
1.2.4 <i>Mourir en contexte euro-québécois : ville versus campagne</i>	24
1.3 LE CIMETIÈRE DE LA PREMIÈRE ÉGLISE NOTRE-DAME.....	25
1.3.1 <i>Résumé des fouilles archéologiques</i>	27
1.3.2 <i>Histoire du cimetière</i>	27
1.4 LE CIMETIÈRE DE POINTE-AUX-TREMBLES.....	30
1.4.1 <i>Résumé des fouilles archéologiques</i>	30
1.4.2 <i>Histoire du cimetière</i>	30
1.5 LE CIMETIÈRE DE SAINTE-MARIE DE BEAUCE.....	34
1.5.1 <i>Résumé des fouilles archéologiques</i>	34
1.5.2 <i>Histoire du cimetière</i>	34
1.6 CONCLUSION DU CADRE CONTEXTUEL.....	37
CHAPITRE 2 — L'APPLICATION DE LA PROTÉOMIQUE POUR L'ESTIMATION DU SEXE	39
2.1 PRINCIPES DE BASE DE LA PROTÉOMIQUE ET SON EMPLOI DANS CETTE ÉTUDE.....	39
2.1.1 <i>Dosage de protéines</i>	41
2.1.2 <i>Isolement de protéines</i>	42
2.1.3 <i>Séparation d'acides aminés</i>	42
2.1.4 <i>Séparation d'un mélange de protéines</i>	43
2.1.5 <i>Déminéralisation et extraction des protéines</i>	43
2.2 FONCTIONNEMENT DU SPECTROMÈTRE DE MASSE POUR L'ANALYSE DES PROTÉINES.....	45
2.3 ÉTUDIER LE PASSÉ PAR L'ÉTUDE DU SQUELETTE.....	46
2.3.1 <i>Les os comme matériel d'étude</i>	47
2.3.2 <i>Les dents comme matériel d'étude</i>	47
2.3.3 <i>Développement et croissance de la dent et de l'émail</i>	49
2.4 APPLICATIONS DE LA PROTÉOMIQUE À LA BIOARCHÉOLOGIE.....	51
2.4.1 <i>Paléodiète et paléopathologie</i>	51
2.4.2 <i>Estimation du sexe</i>	52
2.5 MÉTHODES D'EXTRACTION DES PROTÉINES.....	53
2.6 PROBLÉMATIQUE ET QUESTIONS DE RECHERCHE.....	58

2.6.1 Problématique.....	58
2.6.2 Objectifs.....	59
2.6.3 Résultats espérés.....	61
2.7 CONCLUSION DU CONTEXTE THÉORIQUE.....	61
CHAPITRE 3 — MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	62
3.1 MATÉRIEL : ÉCHANTILLON DENTAIRE.....	62
3.2 MÉTHODES D'ESTIMATION DU SEXE.....	64
3.2.1 Analyses ostéologiques.....	64
3.2.1.1 Estimation de l'âge.....	64
• Estimation de l'âge des juvéniles.....	65
• Estimation de l'âge des adultes.....	67
3.2.1.2 Estimation du sexe.....	69
• Estimation du sexe des adultes.....	69
• Estimation du sexe des juvéniles.....	71
3.2.1.3 Résultats d'estimation du sexe par les méthodes ostéologiques et remarques.....	72
3.2.2 Analyses protéomiques.....	77
3.2.2.1 Préparation des échantillons.....	77
• Prise de photographies en vue d'une numérisation de l'échantillon.....	77
3.2.2.2 Description du protocole d'extraction des protéines.....	79
3.2.2.3 Mise au point méthodologique préliminaire pour le protocole d'extraction.....	82
3.3 TRAITEMENT DES DONNÉES.....	86
3.3.1 L'analyse des résultats de l'estimation du sexe selon la méthode de protéomique.....	87
3.3.1.1 Méthodologie au spectromètre de masse : de la transformation de l'échantillon aux analyses graphiques.....	87
3.3.1.2 Détail des chaînes de peptides ciblées.....	87
3.3.2 Traitement statistique des données de l'estimation du sexe.....	92
3.3.2.1 Justifications des tests effectués.....	93
3.4 CONCLUSION DU MATÉRIEL ET DES MÉTHODES.....	95
CHAPITRE 4 — RÉSULTATS DES ANALYSES.....	96
4.1 RETOUR SUR LES QUESTIONS DE RECHERCHE.....	96
4.2 ESTIMATION DU SEXE : ANALYSE DES RÉSULTATS.....	97
4.2.1 Résultats du sexe avec l'ADN ancien à des fins comparatives.....	97
4.2.2 Résultats de l'estimation du sexe avec la protéomique.....	97
4.2.3 Méthodes ostéologiques traditionnelles vs protéomique : Comparaison des résultats d'estimation du sexe.....	102
4.3 RÉSULTATS FINAUX DES ANALYSES DE L'ESTIMATION DU SEXE AVEC LA PROTÉOMIQUE.....	104
4.3.1 Résultats des analyses statistiques.....	104
4.3.2 Analyse de la fréquence de détection des chaînes de peptides de l'amélogénine.....	105
4.4 CONCLUSION DES RÉSULTATS.....	110
CHAPITRE 5 — DISCUSSION.....	112
5.1 COMMENTAIRES SUR LA COMPARAISON DES RÉSULTATS D'ESTIMATION DU SEXE.....	112
5.1.1 Des réponses aux questions de recherche.....	112
5.1.1.1 Fiabilité des méthodes d'estimation du sexe : Comparaison d'ordre méthodologique.....	112
• Résultats de l'estimation du sexe modifiés par la protéomique.....	113
• Individus identifiés comme étant de sexe masculin : détection des peptides d'AMELY.....	114
• Analyse d'un résultat non concluant pour la protéomique.....	115
• Résultats de l'estimation du sexe attribués par la protéomique à partir de données ostéologiques manquantes	121
5.1.1.2 Commentaires sur la mortalité : Une analyse démographique sommaire des nouvelles données.....	124
5.2 LIMITES DE L'ÉTUDE.....	131
5.3 FUTURES AVENUES DE RECHERCHE.....	133
5.4 CONCLUSION DE LA DISCUSSION.....	135

CONCLUSION	136
BIBLIOGRAPHIE	138
ANNEXES	159
ANNEXE # 1	159
<i>Détail des protocoles d'extraction des différentes études existantes nous permettant de choisir le protocole le plus approprié dans le cadre de la présente étude</i>	159
ANNEXE # 2	165
<i>Liste des individus par cimetière</i>	165
ANNEXE # 3	166
<i>Détail des méthodes utilisées pour estimer le sexe et l'âge des individus</i>	166
ANNEXE # 4	168
<i>Détail des méthodes et des résultats des analyses ostéologiques par individu : Estimation de l'âge</i>	168
ANNEXE # 5	171
<i>Détail des méthodes et des résultats des analyses ostéologiques par individu : Estimation du sexe</i>	171
ANNEXE # 6	174
<i>Comparaison entre l'âge dentaire avec l'éruption dentaire (Ubelaker 1979) et la calcification dentaire (AlQahtani 2010) pour 18 individus</i>	174
ANNEXE # 7	175
<i>Mesures des os longs sur 15 individus juvéniles des trois cimetières à l'étude</i>	175
ANNEXE # 8	176
<i>Comparaison des méthodes d'estimation du sexe avec les méthodes sur l'os coxal et le sacrum pour les adultes (N = 19)</i>	176
ANNEXE # 9	180
<i>Nombre d'individus par groupe d'âges pour l'ensemble des cimetières (N = 47)</i>	180
ANNEXE # 10	181
<i>Détail du sexe (ostéologie) des individus en fonction du groupe d'âge par cimetière</i>	181
ANNEXE # 11	182
<i>Numérisation 3D de l'échantillon : Paramètres et réglages des appareils pour la numérisation de l'échantillon dentaire</i>	182
<i>Numérisation 3D de l'échantillon : Description des photographies à effectuer pour une dent</i>	183
ANNEXE # 12	184
<i>Protocole d'extraction des protéines détaillé</i>	184
ANNEXE # 13	188
<i>Estimation du sexe selon la présence (P) ou l'absence (A) de chaînes de peptides d'AMELX ou d'AMELY (N = 48)</i>	188
ANNEXE # 14	190
<i>Détail du sexe (protéomique) des individus en fonction du groupe d'âge par cimetière</i>	190
ANNEXE # 15	191
<i>Résultats des tests statistiques : Kappa de Cohen mesurant l'accord des résultats du sexe estimé d'après les méthodes ostéologiques traditionnelles et l'approche protéomique</i>	191
<i>Valeurs du Kappa de Cohen et leur signification</i>	192
<i>Résultats des tests statistiques : Alpha de Krippendorff mesurant la fiabilité inter-méthodologique des résultats du sexe estimé d'après les méthodes ostéologiques traditionnelles, l'approche protéomique et l'ADN (N = 8)</i>	192
<i>Valeurs de l'alpha de Krippendorff et leur signification</i>	192
ANNEXE # 16	193
<i>Détail de la présence ou l'absence des peptides ciblés présents au moins une fois pour chaque échantillon : Énaméline et peptides d'AMELY</i>	193
<i>Détail de la présence ou l'absence des peptides ciblés présents au moins une fois pour chaque échantillon : Peptides d'AMELX</i>	196
<i>Détail du nombre de peptides d'AMELX et d'AMELY présents pour chaque échantillon</i>	200
ANNEXE # 17	203

<i>Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour 48 échantillons</i>	203
<i>Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les individus identifiés comme étant de sexe masculin (N = 18)</i>	203
<i>Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les 25 échantillons provenant d'individus adultes</i>	204
<i>Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les individus identifiés comme étant de sexe masculin, individus adultes (N = 13)</i>	204
<i>Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les 23 échantillons provenant d'individus juvéniles</i>	205
<i>Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les individus identifiés comme étant de sexe masculin, individus juvéniles (N = 5)</i>	205
ANNEXE # 18	206
<i>Détails des analyses pour les individus dont la protéomique a modifié l'estimation du sexe (N = 6)</i>	206
<i>Détails des analyses des individus identifiés comme masculins par la protéomique (N = 17)</i>	206
<i>Détails des analyses des individus dont l'échantillon dentaire provient de germes de dents permanentes en croissance (N = 12)</i>	208
<i>Détails des analyses pour les individus dont la protéomique a attribué une estimation du sexe (N = 7)</i>	209
ANNEXE # 19	211
<i>Détail du sexe (ostéologie vs protéomique) des individus adultes et juvéniles par cimetière</i>	211

Liste des tableaux

Tableau 1. <i>Résumé du contexte historique et des interventions archéologiques pour les cimetières de Notre-Dame, Pointe-aux-Trembles et Sainte-Marie de Beauce.</i>	37
Tableau 2. <i>Principes de base et techniques pour l'identification de protéines.</i>	41
Tableau 3. <i>Résumé des différentes méthodes d'extraction des protéines à partir de l'émail des dents pour estimer le sexe d'individus archéologiques.</i>	56
Tableau 4. <i>Description du nombre d'individus total à analyser par cimetière.</i>	62
Tableau 5. <i>Description du nombre de molaires par type pour chaque cimetière.</i>	63
Tableau 6. <i>Os mesurés (marqué d'un X) pour chaque individu juvénile pour lesquels la méthode d'estimation de l'âge d'après des mesures sur les os longs était applicable (Maresh 1970 ; Scheuer et Black 1996).</i>	66
Tableau 7. <i>Nombre d'individus juvéniles et les méthodes d'estimation de l'âge utilisées pour chaque cimetière.</i>	67
Tableau 8. <i>Nombre d'individus adultes par méthodes d'estimation de l'âge utilisées pour chaque cimetière.</i>	69
Tableau 9. <i>Description du nombre d'individus adultes par méthode d'estimation du sexe pour chaque cimetière.</i>	71
Tableau 10. <i>Nombre de filles et de garçons estimés d'après la méthode d'estimation du sexe des juvéniles de Schutkowski (1993) pour chaque cimetière.</i>	72
Tableau 11. <i>Sexe estimé avec les méthodes ostéologiques traditionnelles pour le cimetière de Notre-Dame de Montréal (N = 10), pour le cimetière de Pointe-aux-Trembles (N = 15) et le cimetière de Sainte-Marie de Beauce (N = 22).</i>	73
Tableau 12. <i>Description de l'échantillon testé lors de la mise au point méthodologique du protocole</i>	83
Tableau 13. <i>Détection de protéines de l'émail dentaire avec une abrasion à l'acide de l'émail pendant cinq minutes.</i>	84
Tableau 14. <i>Détection de chaînes de peptides ciblées de l'amélogénine et de l'énaméline dans l'émail dentaire avec une abrasion à l'acide de l'émail pendant une heure.</i>	85
Tableau 15. <i>Liste des 40 chaînes de peptides des isoformes de l'amélogénine ciblées par le spectromètre de masse.</i>	88
Tableau 16. <i>Liste des 18 peptides ciblés d'AMELY.</i>	91
Tableau 17. <i>Sexe déterminé avec l'ADN ancien pour huit individus de notre échantillon.</i>	97
Tableau 18. <i>Sexe estimé avec la protéomique pour le cimetière de Notre-Dame de Montréal (N = 10), le cimetière de Pointe-aux-Trembles (N = 15) et le cimetière de Sainte-Marie de Beauce (N = 22).</i>	98
Tableau 19. <i>Comparaison du sexe estimé d'après les méthodes ostéologiques et la protéomique pour tous les individus des trois cimetières à l'étude (résultats discordants en rouge, non concluants en jaune et sexe ostéologique indéterminé en bleu).</i>	102
Tableau 20. <i>Comparaison de l'estimation du sexe selon la protéomique, l'ostéologie et l'ADN pour huit individus de notre échantillon.</i>	105
Tableau 21. <i>Moyennes du nombre de peptides détectés par le spectromètre de masse parmi ceux ciblés par individu.</i>	106

Tableau 22. <i>Liste des 19 chaînes de peptides détectées par le spectromètre de masse parmi les 40 ciblées.</i>	106
Tableau 23. <i>Résumé de la détection des chaînes de peptides ciblées.</i>	107
Tableau 24. <i>Peptides détectés le plus fréquemment dans la totalité des échantillons.</i>	110
Tableau 25. <i>Peptides détectés le plus fréquemment dans les échantillons pour les individus adultes.</i>	110
Tableau 26. <i>Peptides détectés le plus fréquemment dans les échantillons pour les individus juvéniles.</i>	110
Tableau 27. <i>Décompte des résultats ostéologiques confirmés, modifiés ou attribués de l'estimation du sexe selon deux méthodes.</i>	113
Tableau 28. <i>Détection de peptides d'AMELX pour cinq petites filles du cimetière de Pointe-aux-Trembles présentant de l'émail hypoplasique.</i>	117
Tableau 29. <i>Commentaires sur la conservation du matériel biologique : détails de la détection des peptides d'AMELX et d'AMELY selon l'emplacement de la sépulture dans le cimetière de Sainte-Marie de Beauce (Ethnoscop 2006).</i>	119
Tableau 30. <i>Détail de l'apport de données aux estimations initiales du sexe avec la protéomique.</i>	128

Liste des figures

Figure 1. Localisation des trois cimetières à l'étude sur une carte montrant la vallée du Saint-Laurent entre Montréal et Québec (carte générée par Jade Parent sur Google Maps).	26
Figure 2. Cartes anciennes montrant l'emplacement de la première église Notre-Dame de Montréal (flèches rouges) et du cimetière (flèches noires). a) Plan rapproché de la ville de Montréal (Dubois Berthelot de Beausecours 1714) ; b) Plan rapproché de la ville de Montréal (Chaussegros de Léry 1717) ; c) Plan rapproché de la ville de Montréal (Bouchette 1815).	28
Figure 3. Gravure représentant une procession funéraire se dirigeant vers la première église Notre-Dame vers la fin du XVIIIe siècle (Kroupa s.d.).	30
Figure 4. Cartes anciennes montrant l'emplacement de la deuxième église de Pointe-aux-Trembles (flèches rouges) et du deuxième cimetière lui étant associé (flèches noires) ; le premier cimetière se situant autour de l'église elle-même. a) Plan rapproché du village de Pointe-aux-Trembles (Edward 18— ?) ; b) Plan rapproché du village de Pointe-aux-Trembles (Hopkins 1879) ; c) Plan rapproché du village de Pointe-aux-Trembles (Goad 1907). Notons que le « nord montréalais » conventionnel est vers le haut dans les plans rapprochés : il s'agit de l'ouest cardinal.	32
Figure 5. Photographie de la deuxième église de Pointe-aux-Trembles, du presbytère, du couvent et d'un bâtiment annexe à l'église avant l'incendie de 1937 (Anonyme 19— ?).	33
Figure 6. Carte ancienne montrant l'emplacement de l'église de Sainte-Marie de Beauce (flèche rouge) et le cimetière associé (flèche noire) (Goad 1912).	35
Figure 7. Photographie de l'église de Sainte-Marie de Beauce en 1920 (Anonyme 1920).	36
Figure 8. (A) — Étapes principales de la synthèse des protéines : transcription de l'ADN en ARNm et traduction de l'ARNm en séquence d'acides aminés ($N = 20$). (B) — Formation de la structure 3D de la protéine se repliant sur elle-même en quatre phases : (a) primaire, (b) secondaire, (c) tertiaire et (d) quaternaire. Schéma tiré de (Férey et al. 2009).	40
Figure 9. Schématisation du fonctionnement d'un spectromètre de masse pour l'analyse d'identification (a) et l'analyse ciblée (b) des peptides (élaboré par Jade Parent 2023 à partir de Doerr 2013 ; Stewart et al. 2016, 2017).	46
Figure 10. Illustration schématique d'une molaire permanente montrant les différentes structures (générée par Jade Parent 2023 sur le logiciel Edraw : https://www.edrawsoft.com/fr/infographics/medical-infographics.html).	48
Figure 11. Âge dentaire selon la croissance d'une molaire permanente (à gauche) ou d'une canine permanente (à droite) (D'Ortenzio et al. 2016).	49
Figure 12. Croissance de l'émail dentaire à partir de cellules épithéliales (à partir de Hillson 1996 : 119).	50
Figure 13. Séquence des acides aminés de la protéine α -SI-caséine pour la vache, la brebis et la chèvre (Buckley, Melton, et Montgomery 2013).	52
Figure 14. Résumé présentant les éléments principaux des protocoles d'extraction des protéines de l'émail des dents utilisés par Porto et collègues (2011b) (créé par Jade Parent 2023).	54
Figure 15. Résumé présentant les étapes principales des différents protocoles d'extraction des protéines de l'émail dentaire (créé par Jade Parent 2023).	55
Figure 16. Graphique du nombre d'individus par groupe d'âge pour les trois cimetières à l'étude.	73

Figure 17. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Notre-Dame.	75
Figure 18. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Pointe-aux-Trembles.....	76
Figure 19. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Sainte-Marie de Beauce.	76
Figure 20. Laboratoire photographique pour la numérisation de l'échantillon dentaire à l'Anthropolab3D (photo : Jade Parent 2020).	78
Figure 21. Schéma présentant les étapes principales de la transformation de l'émail dentaire en peptides analysables (élaboré par Jade Parent 2023 à partir du protocole modifié de Stewart et al. 2016, 2017).	80
Figure 22. Montage de l'étape 5 de l'abrasion de l'émail (modifié à partir de l'image du montage de Stewart et al. 2016). En bleu, la solution d'émail déminéralisé contenant les peptides. (Photo : Jade Parent 2021).	81
Figure 23. ZipTip à résine C18 ayant servi à la filtration des peptides d'un échantillon liquide (photo : Jade Parent 2021).	82
Figure 24. Eppendorfs contenant les peptides élués en solution liquide pour l'analyse au spectromètre de masse (photo : Jade Parent 2021).....	82
Figure 25. Spectromètre de masse Q-Exactive HF de Thermo Fisher (image : https://www.medicaexpo.fr/prod/thermo-scientific/product-78678-671309.html).....	87
Figure 26. Représentation graphique des résultats (IRIC 2021). Exemples des échantillons n° 9 à 14.....	90
Figure 27. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe estimé par la protéomique par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Notre-Dame.	100
Figure 28. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe estimé par la protéomique par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Pointe-aux-Trembles.	101
Figure 29. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe estimé par la protéomique par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Sainte-Marie de Beauce.....	101
Figure 30. Pourcentage de détection des peptides d'AMELX pour l'ensemble des échantillons, pour les individus adultes et pour les individus juvéniles.	108
Figure 31. Pourcentage de détection des peptides d'AMELY pour les échantillons masculins uniquement.	109
Figure 32. Taches brunâtres couvrant l'émail des dents permanentes (dentition maxillaire gauche) de l'individu 2A1, Sainte-Marie de Beauce (photo : Jade Parent 2023).....	116
Figure 33. Germes dentaires de premières molaires permanentes n'ayant pas achevé leur minéralisation, apparence normale. Individu 2E7, Sainte-Marie de Beauce, échantillon #9 (photo : Jade Parent 2023).	121
Figure 34. Nombre de femmes et de filles et nombre d'hommes et de garçons selon la méthode d'estimation du sexe pour tous les cimetières : portrait détaillé.	125
Figure 35. Nombre de femmes et de filles et nombre d'hommes et de garçons selon la méthode d'estimation du sexe pour le cimetière de Notre-Dame : portrait détaillé.	126
Figure 36. Nombre de femmes et de filles et nombre d'hommes et de garçons selon la méthode d'estimation du sexe pour le cimetière de Pointe-aux-Trembles : portrait détaillé.	126
Figure 37. Nombre de femmes et de filles et nombre d'hommes et de garçons selon la méthode d'estimation du sexe pour le cimetière de Sainte-Marie de Beauce : portrait détaillé.	127

Liste des abréviations

Cimetières

ND : Cimetière de Notre-Dame

PAT : Cimetière de Pointe-aux-Trembles

SM : Cimetière de Sainte-Marie de Beauce

Chimie

C : Carbone

$C_2HCl_3O_2$: Acide trichloroacétique

C_3H_6O : Acétone

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique

HA : Hydroxyapatite

HCl : Acide chlorhydrique

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

N : Azote

NaOH : Hydroxyde de sodium

O : Oxygène

Dents

M1 : Premières molaires permanentes

m2 : Deuxièmes molaires déciduales

M2 : Deuxièmes molaires permanentes

M3 : Troisièmes molaires permanentes

Organisations

CAPCA : Centre d'Analyse Protéomique et Chémogénomique Avancée

IRIC : Institut de Recherche en Immunologie et en Cancérologie de l'UdeM

UdeM : Université de Montréal

UQTR : Université du Québec à Trois-Rivières

Protocole d'analyse

CCM : Chromatographie sur couche mince

DSP : Diagnose sexuelle probabiliste

MS : Spectromètre de masse (*mass spectrometer*)

LC-MS/MS : Spectromètre de masse par chromatographie liquide (*liquid chromatography mass spectrometer*)

Sexe

F : Sexe féminin/femme ou fille

ind. : Sexe indéterminé

M : Sexe masculin/homme ou garçon

TF : Tendance féminine

TM : Tendance masculine

Lexique

Acides aminés : Molécules qui entrent dans la composition des protéines selon une configuration précise.

Ad sanctos : Inhumations pratiquées dans les sous-sols d'églises (au Québec).

Amélogénèse : Formation de l'émail dentaire.

Apex (dents) : Base de la racine d'une dent.

Bases azotées : Molécules qui entrent dans la composition des nucléotides à la base de l'ADN.

Capillarité (chimie) : Phénomène par lequel un liquide monte dans un tube vide.

Cellules épithéliales : Cellules qui forment l'épithélium (cellules qui couvrent la paroi intérieure ou extérieure d'une surface).

Centrifuger : Séparer les composantes d'une solution à l'aide d'une rotation très rapide dans une centrifugeuse.

Clivage (ions) : Scission ou rupture d'une liaison chimique.

Digestion (chimie) : Processus durant lequel de grosses molécules sont fragmentées en éléments plus petits.

Électrons : Composants de l'atome ayant une charge négative.

Élution, élué, éluant : Remettre en solution (solution éluee) à l'aide d'un solvant (éluant).

Génome, génomique : Ensemble des chromosomes et des gènes, l'étude du génome.

Hydrophobicité : Caractérise l'affinité ou plutôt l'absence d'affinité avec l'eau d'une substance ou d'une molécule.

Inhibiteurs de protéase : Molécules qui agissent en bloquant l'action des protéases (enzymes qui brisent les liaisons peptidiques des protéines).

In utero : Avant la naissance, dans l'utérus.

In vivo : Sur un spécimen vivant.

Ions, ionisation, ionisé : Groupement d'atome ayant une charge électrique, action d'ajouter une charge à un atome (atome ionisé).

Isoformes : Formes pratiquement identiques d'une même protéine variant selon sa configuration.

Lyophiliser : Séchage par congélation.

Lysat cellulaire : Produit de la dissolution de tissus organiques, de cellules ou de micro-organismes.

Macromolécules : Grosses molécules ayant une masse moléculaire élevée.

Mésenchyme : Tissu conjonctif embryonnaire à l'origine de tissus adultes.

Phénotype : Ensemble des caractères observables d'un organisme.

Protéome, protéomique : Ensemble des protéines exprimées par un génome, l'étude du protéome.

Re-suspension (échantillon) : Replacer des particules dans un fluide.

Solvant : Substance ajoutée pour dissoudre d'autres substances.

Tampon (buffer) : Solution qui conserve le même pH malgré l'ajout d'autres substances.

Remerciements

D'abord, je tiens à remercier mes directeurs de recherche : ma directrice de recherche Prof. Isabelle Ribot pour ses encouragements et ses précieux conseils tout au long de mon parcours et pour son enthousiasme face à la réalisation d'un projet de recherche d'une telle envergure et mon co-directeur, Prof. Tagnon Missihoun de l'Université du Québec à Trois-Rivières, pour son intérêt face à l'application de méthodes de protéomique en dehors du champ de la biochimie, pour l'accès aux ressources de son laboratoire et pour sa patience et sa passion à me transmettre les différentes notions de biochimie nécessaires à mon cheminement.

Ensuite, j'aimerais remercier d'autres spécialistes qui ont contribué à la réussite de mon projet de recherche : Dr. Eric Bonneil de l'Institut de Recherche en Immunologie et en Cancérologie de l'Université de Montréal (IRIC) pour les différentes analyses d'échantillons au spectromètre de masse, Dr. Michael Buckley de la University of Manchester pour ses conseils d'expert en ce qui concerne la protéomique appliquée aux contextes archéologiques, Amal Jaballi (UQTR) pour le soutien technique, l'équipe de l'AntropoLab 3D soit Jean-Baptiste Lemoine pour m'avoir appuyé dans la numérisation de mon échantillon et Diane Martin-Moya pour m'avoir donné accès aux modèles 3D des crânes des individus à l'étude et à ses résultats d'ADN.

J'aimerais également remercier l'association Archéo-sciences/Archéo-sociale (AS²), le Conseil de recherches en sciences humaines du Canada (CRSH) et le Fond de recherche québécois sur la société et la culture (FRQSC) pour leur contribution financière.

Finalement, je remercie ma famille : mes parents, ma sœur Maude et mon grand-papa, pour leur soutien inconditionnel dans mes longues études, mention spéciale à mon père pour les multiples allers-retours entre Montréal et Trois-Rivières. Je remercie mes ami.e.s Louis-Philippe et Amy-Lee et mon conjoint Thomas pour leurs encouragements. Puis, un gros merci à mes amies et collègues : Rose-Ann, Camille, Marie-Ève et Emmanuelle pour leur support psychologique, les échanges entre chercheuses et leur amitié.

Introduction

L'estimation du sexe est, avec l'âge au décès, à la base de toutes analyses bioarchéologiques qui ont pour but d'étudier les sociétés et les populations passées. En effet, qu'il s'agisse d'études socio-culturelles, paléodémographiques, paléopathologiques, sur la mortalité ou encore sur les pratiques funéraires, il est essentiel d'estimer le sexe des individus présents dans une population ou un échantillon de manière à pouvoir discuter des résultats au niveau populationnel, culturel ou social plutôt que simplement au niveau individuel (Ribot, Morland, et Boisjoli 2010; Vigeant, Ribot, et Hélie 2017; Humphrey, Bello, et Rousham 2012; Gutierrez 2018; Crépin 2017; etc.). En d'autres mots, l'analyse des populations archéologiques passe par des études ostéologiques qui ont développé des techniques pour estimer le sexe et l'âge des squelettes humains (Buikstra et Ubelaker 1994; White et Folkens 2005; Murail et al. 2005). L'estimation du sexe permet de préciser le profil de mortalité qui est essentiel pour comprendre l'état de santé et le mode de vie des populations passées. Outre l'estimation du sexe à l'aide de l'ADN ancien qui procure les résultats les plus précis, de nombreuses méthodes ostéologiques morphologiques ou morphométriques existent pour estimer le sexe des adultes avec une fiabilité en moyenne de 70 à 90% (Buikstra et Ubelaker 1994; White et Folkens 2005; Murail et al. 2005). Par contre, pour ce qui est des juvéniles n'ayant pas atteint la puberté, les quelques méthodes d'estimation du sexe qui ont été développées au cours des dernières décennies sont jugées comme étant peu fiables, puisque les traits dimorphiques ne sont pas encore entièrement exprimés morphologiquement (Vlak, Roksandic, et Schillaci 2008; Schutkowski 1993).

La conservation des os influençant grandement l'observation de la morphologie et l'ADN ancien s'avérant très coûteuse et étant affectée par de nombreuses variables (ex. conservation, contamination), Stewart et collègues (2016; 2017) ont proposé une méthode de protéomique qui utilise l'amélogénine, une protéine sexuellement spécifique issue de l'émail des dents. Cette approche est minimalement destructrice, car elle permet de conserver l'intégrité de la dent (Stewart et al. 2016; 2017; Porto et al. 2011a; 2011b). La méthode pour extraire l'amélogénine consiste en une abrasion à l'acide de l'émail de dents que nous avons appliquée sur 47 individus provenant de trois cimetières euro-québécois. Les échantillons extraits de cette manière sont ensuite analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. Finalement, les résultats

permettent d'indiquer le sexe pour chaque individu archéologique par la présence ou l'absence de différentes chaînes de peptides associées au chromosome X (AMELX) ou Y (AMELY).

En bref, notre objectif principal est ici d'appliquer la méthode de protéomique pour estimer le sexe d'individus issus de sépultures anonymes en contexte archéologique (47 individus provenant de trois cimetières euro-qubécois), et ainsi préciser le portrait paléodémographique des sites à l'étude. Précisément, nous voulions : i) établir un protocole d'extraction des protéines; ii) calculer l'accord inter-méthodologique entre les résultats d'estimation du sexe avec les méthodes ostéologiques et avec la protéomique ; et iii) évaluer l'apport de données fournies par la protéomique pour nous permettre de compléter d'anciennes études sur la mortalité dans ces cimetières. Pour ce projet, nous avons mis l'accent sur les données des juvéniles, car elles sont particulièrement incomplètes dès le départ au niveau des estimations ostéologiques du sexe.

Le présent mémoire est divisé en cinq chapitres. Tout d'abord, le cadre conceptuel met l'accent sur l'importance de l'estimation du sexe dans l'analyse bioarchéologique pour pouvoir analyser la mortalité de manière plus fine, plus particulièrement en contexte euro-qubécois. Des courts résumés des interventions archéologiques et de l'histoire de chaque cimetière se trouvent également dans ce chapitre. Ensuite, le cadre théorique met l'accent sur les principes de base de la protéomique (lien entre amélogénine et émail) et de leurs applications en contexte archéologique pour nous permettre de développer nos questions de recherche. Par la suite, nous verrons les méthodes ostéologiques employées, ainsi que le protocole nous permettant d'extraire les peptides dérivés de l'amélogénine, en terminant par les méthodes de traitement de nos données. Après, le chapitre des résultats met l'accent sur les données obtenues issues de l'estimation du sexe avec la protéomique et sur la comparaison inter-méthodologique des résultats (protéomique *versus* ostéologie). Finalement, nous discutons des résultats concordants et discordants et de l'apport des données fournies par la protéomique. Nous terminons sur les limites de la méthode et les futures avenues de recherche pour allier protéomique et bioarchéologie.

Chapitre 1 — Cadre contextuel

Parmi les concepts à la base de l'analyse bioarchéologique sont l'estimation du sexe ainsi que les critères utilisés pour analyser les populations anciennes en fonction de leur mortalité. Ces idées nous conduiront ensuite à présenter et problématiser les trois cimetières qui composent notre échantillon dans le cadre de notre projet de recherche.

1.1 L'importance de l'estimation du sexe dans l'analyse bioarchéologique

De nombreux éléments sont pris en compte lors d'une intervention archéologique en contexte funéraire. Il y a d'abord les pratiques entourant la mort, les défunts et défunt(e)s et leur enterrement chez les populations à l'étude. Parmi ces pratiques, nous pouvons nommer l'importance d'un lieu de culte, l'emplacement d'une sépulture dans l'espace et par rapport aux autres, le type de lieu d'enterrement, le type de sépulture ainsi que le mobilier funéraire (Oliver-Lloyd 2010). Il faut également prendre en compte le traitement du corps lors de l'analyse d'un contexte funéraire, ce qui comprend la position et l'orientation du corps et la présence ou non d'un cercueil, entre autres (Oliver-Lloyd 2010). Puis, pour pousser l'analyse, le ou la bioarchéologue peut replacer les individus mis au jour dans leur contexte historique, social et populationnel. Pour ce faire, de nombreux éléments peuvent être analysés grâce aux méthodes ostéologiques morphologiques ou morphométriques et grâce à des méthodes biochimiques ou géochimiques appliquées sur les os ou les dents des défunts et défunt(e)s.

Ces éléments sont le sexe, l'âge, l'état de santé (ex. pathologies), l'origine géographique et les liens familiaux (Brickley et McKinley 2004 ; Buikstra et Ubelaker 1994 ; Mays 2021). En effectuant une analyse complète des individus mis au jour en contexte archéologique, nous pouvons ensuite, avec un échantillon significatif, proposer des hypothèses pour une analyse du point de vue populationnel. La composition démographique d'un cimetière peut alors nous informer sur l'état de santé d'une population, sur son profil de mortalité ainsi que sur la composition génétique de celle-ci (Chamberlain 2006). Le profil de mortalité est établi en regroupant les personnes décédées selon divers critères. Par exemple, on peut ainsi mesurer la mortalité infantile dans cette population ou encore le taux de mortalité selon le sexe. D'où

l'importance d'estimer l'âge et le sexe des individus provenant de cimetières archéologiques (Séguy et Buchet 2011 ; Katzenberg et Saunders 2007).

1.1.1 Mortalité différentielle

Lorsqu'on étudie les populations anciennes, que ce soit la population d'un seul cimetière ou les populations de plusieurs cimetières dans le but de les comparer, il est intéressant d'étudier la mortalité sous l'angle de critères différentiels (Chamberlain 2006 ; Séguy et Buchet 2011). Par exemple, pour une même population, nous pouvons comparer la mortalité des adultes par rapport à celle des enfants, la mortalité des femmes par rapport à celle des hommes ou encore celle des petites filles par rapport à celle des petits garçons (Lacroix et Desjardins 2013 ; Gagnon et Mazan 2009 ; Amorevieta-Gentil 2010 ; Humphrey, Bello, et Rousham 2012 ; Afonso et al. 2019 ; Craig-Atkins, Towers, et Beaumont 2018). Pour deux ou plusieurs populations, nous pouvons comparer la mortalité selon si ces dernières se trouvent en contexte urbain ou rural ou encore comparer les taux de mortalité infantile de ces populations entre elles (Gadoury, Landry, et Charbonneau 1985 ; Courville 1996 ; Thornton, Olson, et Quoc 1989). Utiliser la mortalité différentielle pour étudier les populations anciennes semble une bonne manière de poser des critères qui rendront l'analyse bioarchéologique pertinente.

1.2 La mort en contexte euro-qubécois

Nous procéderons maintenant à un rapide survol de la mort en contexte euro-qubécois, plus précisément en ce qui concerne les périodes de la fin du XVII^e siècle à la fin du XIX^e siècle.

1.2.1 Pratiques funéraires

D'abord, en ce qui concerne les pratiques funéraires, le type d'inhumation, le traitement des corps et l'organisation des cimetières sont plutôt uniformes en contexte euro-qubécois et, plus précisément, dans le cas des cimetières catholiques (Oliver-Lloyd 2010; Courville et Séguin 2001). Jusqu'au milieu du XIX^e siècle, les cimetières sont des lieux sacrés associés à une église et ils sont délimités précisément dans l'espace. Puisque les cimetières à l'étude correspondent à ce modèle,

nous nous concentrerons sur ce dernier. Il s'agit du cimetière paroissial (Oliver-Lloyd 2010; Courville et Séguin 2001).

Dans le cimetière paroissial, les individus sont inhumés soit *ad sanctos* (Oliver-Lloyd 2010 ; Cornellier 2011), c'est-à-dire, à l'intérieur de l'église ou dans le cimetière extérieur, un espace sacré délimité par un muret ou une clôture (Oliver-Lloyd 2010; Courville et Séguin 2001). L'inhumation au sein des murs de l'église était réservée aux membres du clergé ou encore aux plus nantis des paroissiens qui pouvaient payer les frais associés à ce type d'inhumation (Oliver-Lloyd 2010; Cornellier 2011; Courville et Séguin 2001). Pour ce qui est du cimetière extérieur, en général, les gens les plus éminents de la communauté étaient inhumés plus près des murs de l'église, alors que les plus marginaux étaient inhumés plus loin. Parfois, une section du cimetière ou un cimetière en entier était réservé aux « pauvres » (Oliver-Lloyd 2010; Courville et Séguin 2001).

À ce propos, le cimetière paroissial était souvent organisé selon un schéma qui visait à séparer les individus. En effet, celui-ci comportait souvent plusieurs sections dont une section réservée aux enfants et, plus particulièrement, une section réservée aux enfants morts sans baptême (Oliver-Lloyd 2010; Courville et Séguin 2001). Une section pouvait également être réservée aux individus indignes, par exemple, ceux décédés par suicide. Aussi, les membres d'une même famille pouvaient parfois être inhumés au même endroit, bien que l'absence de marqueurs sur les sépultures rende cela difficile à faire pour les fossoyeurs à moins que les décès soient rapprochés dans le temps (Oliver-Lloyd 2010). Finalement, comme les cimetières étaient situés dans un espace restreint, les sépultures étaient empilées les unes par-dessus les autres jusqu'à ce que le manque d'espace oblige le rehaussement du cimetière ou l'ouverture d'un nouvel espace d'inhumation (Cornellier 2011; Courville et Séguin 2001). Sur le plan horizontal, la coutume chrétienne voulait que les pieds soient orientés vers l'est. Un autre scénario existe cependant selon lequel les sépultures étaient placées les unes à côté des autres en orientant les cercueils pour que les pieds des individus fassent face à l'église. En pratique, cependant, ces schémas n'étaient pas toujours respectés.

La plupart du temps les corps inhumés correspondent à des sépultures primaires individuelles à l'exception de quelques individus qui sont parfois inhumés avec un ou une enfant (Oliver-Lloyd 2010). On peut penser ici à une mère morte en couches inhumée avec son enfant mort-né, par exemple. Les corps étaient mis nus dans un linceul ou, un peu plus tard, habillés, dans des cercueils en bois (Oliver-Lloyd 2010). Les individus étaient couchés sur le dos avec les mains le long du corps ou croisées au niveau du bassin ou de la cage thoracique (Oliver-Lloyd 2010). Enfin, des individus étaient inhumés dans des fosses communes lorsque la mortalité était telle qu'il fallait enterrer les nombreux défunts hâtivement, lors d'épidémies particulièrement mortelles, par exemple (Oliver-Lloyd 2010; Cornellier 2011; Courville et Séguin 2001).

1.2.2 La mort et le sexe en contexte euro-qubécois

De la fin du XVII^e siècle à la fin du XIX^e siècle, le sexe semble avoir peu d'impact sur la mortalité en général. Cependant, certains groupes d'âge ont une mortalité différentielle selon le sexe. En effet, à l'âge adulte, les femmes en âge de se reproduire, soit entre 20 et 40 ans décèdent plus que les hommes du même âge (Lacroix et Desjardins 2013 ; Gagnon 2013 ; Charbonneau et Landry 1979 ; Charbonneau 2020), entre autres, à cause des grossesses successives et des dangers de l'accouchement (Charbonneau 1975 ; Lemieux 1985). En revanche, il arrive également que de jeunes hommes de moins de 30 ans décèdent, laissant derrière une veuve qui doit se remarier (Lacroix et Desjardins 2013 ; Gagnon 2013 ; Charbonneau et Landry 1979 ; Charbonneau 2020). La mortalité est semblable pour les deux sexes une fois passé l'âge de 40 ans (espérance de vie de l'époque), mais la mortalité des hommes est plus élevée chez les individus très âgés (Lacroix et Desjardins 2013 ; Gagnon 2013 ; Charbonneau et Landry 1979 ; Charbonneau 2020 ; 1975). En d'autres termes, les hommes vivent généralement plus longtemps que les femmes. Puis, en ce qui concerne les enfants, avant l'âge d'un an, il y a une surmortalité des garçons par rapport aux filles (Amorevieta-Gentil 2010). Par exemple, entre les années 1680 et 1725, « entre 1,1 et 1,3 plus de petits garçons décédaient comparativement aux petites filles » (Amorevieta-Gentil 2010 : 143). Cela est probablement dû à la naissance d'un plus grand nombre de garçons que de filles. La mortalité est en corrélation avec la natalité, c'est-à-dire que puisqu'il y a une plus forte naissance de garçons, il y aura une plus forte mortalité infantile pour les individus masculins, ce qui est un

processus biologique tout à fait normal (DiPietro et Voegtline 2017; Drevenstedt et al. 2008; Vallin 2006; Humphrey, Bello, et Rousham 2012).

1.2.3 La mort et l'âge en contexte euro-qubécois : le cas des juvéniles

Pour les mêmes périodes, de nombreuses études ont mis l'accent sur la mortalité infantile des communautés euro-qubécoises de descendance française (Gagnon 2013 ; Thornton, Olson, et Quoc 1989 ; Gagnon et Mazan 2009 ; Charbonneau et Landry 1979 ; Charbonneau 2020 ; Amorevieta-Gentil 2010). La mortalité infantile est relativement élevée au XVII^e siècle, mais la population de la Nouvelle-France est en hausse à cause de la forte natalité (Charbonneau et Landry 1979 ; Charbonneau 2020 ; Amorevieta-Gentil 2010 ; Dechêne 1974 ; Baillargeon 2012). Puis, elle augmente au XVIII^e siècle avec le développement des villes et les épidémies mortelles jusqu'à atteindre un sommet au XIX^e siècle (Thornton, Olson, et Quoc 1989 ; Gagnon et Mazan 2009 ; Amorevieta-Gentil 2010). Ce sont surtout les nouveau-nés et les enfants de moins d'un an qui sont à risque. En effet, beaucoup d'enfants décèdent dans le premier mois ou encore dans les premières heures après la naissance (Charbonneau 1975). Cela est principalement dû à l'état de santé de la mère (Amorevieta-Gentil 2010). Plusieurs enfants décèdent également dans les premiers mois à cause de la mise en nourrice qui est souvent désavantageuse pour l'enfant (Amorevieta-Gentil 2010). Puis, bon nombre décèdent avant l'âge d'un an à cause de l'hygiène de vie déficiente de l'époque, de l'environnement, de maladies ou encore à cause d'un sevrage prématuré (Amorevieta-Gentil 2010).

Le taux de mortalité infantile diminue avec l'âge des enfants (Charbonneau 1975). En effet, les enfants âgés de 6 à 10 ans sont moins à risque que les enfants plus jeunes. Enfin, les adolescents et adolescentes ont le taux de mortalité le moins élevé de toute la population (Amorevieta-Gentil 2010). L'âge au décès semble être le principal critère d'analyse pour décrire la mortalité infantile.

1.2.4 Mourir en contexte euro-qubécois : ville versus campagne

Le lieu d'habitation exerçait également une influence sur la mortalité. En effet, le milieu urbain et le milieu rural présentaient des différences notables au niveau du mode de vie des communautés (Gadoury, Landry, et Charbonneau 1985 ; Thornton, Olson, et Quoc 1989 ;

Amorevieta-Gentil 2010 ; Courville 1996). Montréal et Québec étaient les seuls noyaux urbains en sol canadien pendant très longtemps alors que les autres agglomérations avaient les caractéristiques du milieu rural à cause de leur faible population et de l'espace agricole dominant. Sur l'île de Montréal, seul l'espace correspondant au Vieux-Montréal actuel peut être considéré comme un espace urbain. Les autres paroisses telles que celle de Pointe-aux-Trembles avaient les caractéristiques du milieu rural (Nguigain-Launière 2013). Le taux de mortalité était plus élevé en milieu urbain qu'en milieu rural. Cela est principalement dû à l'insalubrité des villes et aux épidémies qui se propageaient très rapidement dans cet espace restreint et densément peuplé (Gadoury, Landry, et Charbonneau 1985 ; Thornton, Olson, et Quoc 1989 ; Amorevieta-Gentil 2010 ; Courville 1996). De la même manière, les enfants des villes avaient un taux de mortalité plus élevé que les enfants des campagnes (Gadoury, Landry, et Charbonneau 1985 ; Thornton, Olson, et Quoc 1989 ; Amorevieta-Gentil 2010 ; Courville 1996). Aussi, aux XVII^e et XVIII^e siècles, les familles de l'élite socioéconomique étaient concentrées dans les villes, ce qui explique leur taux de mortalité élevé par rapport à celui des familles provenant de milieux agricoles. Qui plus est, les mères urbaines issues de milieux aisés avaient beaucoup recours à la mise en nourrice pour allaiter leurs enfants (Gadoury, Landry, et Charbonneau 1985 ; Thornton, Olson, et Quoc 1989 ; Amorevieta-Gentil 2010). Le départ du bébé vers la nourrice ainsi que son adaptation étaient souvent une cause de stress voire de décès, ceci constitue une autre hypothèse qui explique la mortalité élevée des bébés nés en ville dans une famille de classe sociale aisée (Gutierrez 2018).

1.3 Le cimetière de la première église Notre-Dame

Pour chacun des cimetières à l'étude, diverses interventions archéologiques ont eu lieu à l'emplacement des sépultures, et il existe aussi des informations historiques pour ces cimetières. Regardons d'abord le cimetière de la première église Notre-Dame (ND) dans le Vieux-Montréal (figure 1).

Localisation des cimetières à l'étude

Cimetières à l'étude

-  Cimetière Notre-Dame
-  Cimetière de Pointe-aux-Trembles
-  Cimetière de Sainte-Marie de Beauce

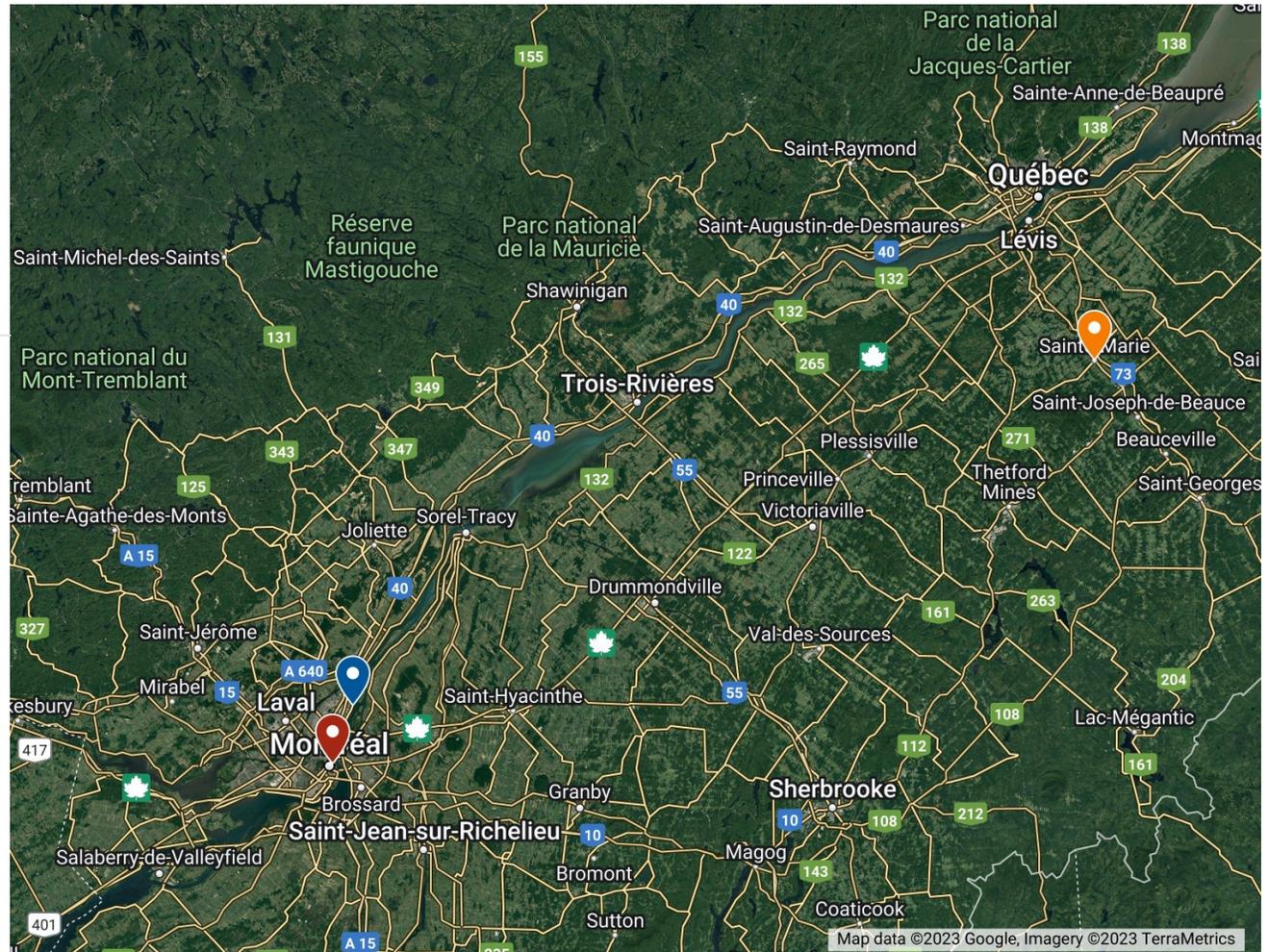


Figure 1. Localisation des trois cimetières à l'étude sur une carte montrant la vallée du Saint-Laurent entre Montréal et Québec (carte générée par Jade Parent sur Google Maps).

1.3.1 Résumé des fouilles archéologiques

Plusieurs interventions archéologiques ont eu lieu à l'emplacement de la première église Notre-Dame et de son cimetière, dans le Vieux-Montréal (Arkéos 2006 ; 2008a ; 2008b ; 2010 ; 2013a ; 2013b ; Archéotec 2012). Il s'agit d'un site connu qui porte le code Borden BjFj-112. Les interventions entre 2004 et 2006 (Arkéos 2008a; 2008b) ont servi à mettre au jour 125 sépultures articulées de même que de nombreux os épars. Au total, 193 individus ont été dénombrés lors de ces interventions dont 13 avaient été inhumés à l'intérieur de l'église (Arkéos 2008a ; 2008b). Les sépultures sont souvent incomplètes à cause des inhumations superposées et des nombreux travaux de construction dans cette zone. Environ 40 % des sépultures avaient un état de conservation jugé comme mauvais, principalement parce que les limites du mandat ont forcé les archéologues à tronquer certaines sépultures. Les individus provenant de ces sépultures n'étaient donc représentés dans l'inventaire que par la moitié inférieure ou supérieure du corps (Arkéos 2006; 2008a; 2008b; 2013a ; 2013b).

1.3.2 Histoire du cimetière

La première église Notre-Dame fut construite à partir de 1672 dans la paroisse originelle de Ville-Marie (Pothier 2004). Elle était située à l'emplacement actuel de la rue Notre-Dame Ouest et de sa jonction avec la rue Saint-Sulpice ainsi qu'à l'emplacement de la place d'Armes, au cœur du Vieux-Montréal (figure 2, figure 3). Le parvis de la Basilique Notre-Dame qui a remplacé la première église à partir de 1830 empiète également sur les vestiges du cimetière lui étant adjacent. La première église Notre-Dame fut détruite en 1830 (Pothier 2004). Le cimetière paroissial associé à cette église se situait à l'arrière ainsi qu'au sud de cette dernière. Celui-ci fut ouvert en 1691 et fermé en 1796 (Arkéos 2008a). Les sépultures se trouvant au sein de la première église (*ad sanctos*) auraient été transférées dans la nouvelle église alors que seulement une partie des sépultures du cimetière extérieur aurait été exhumée puis réinhumée au cimetière Saint-Antoine ouvert en 1799 (Arkéos 2013a). La plupart des sépultures seraient donc encore en place sous les rues Notre-Dame Ouest et Saint-Sulpice (Arkéos 2006; 2008a; 2008b).

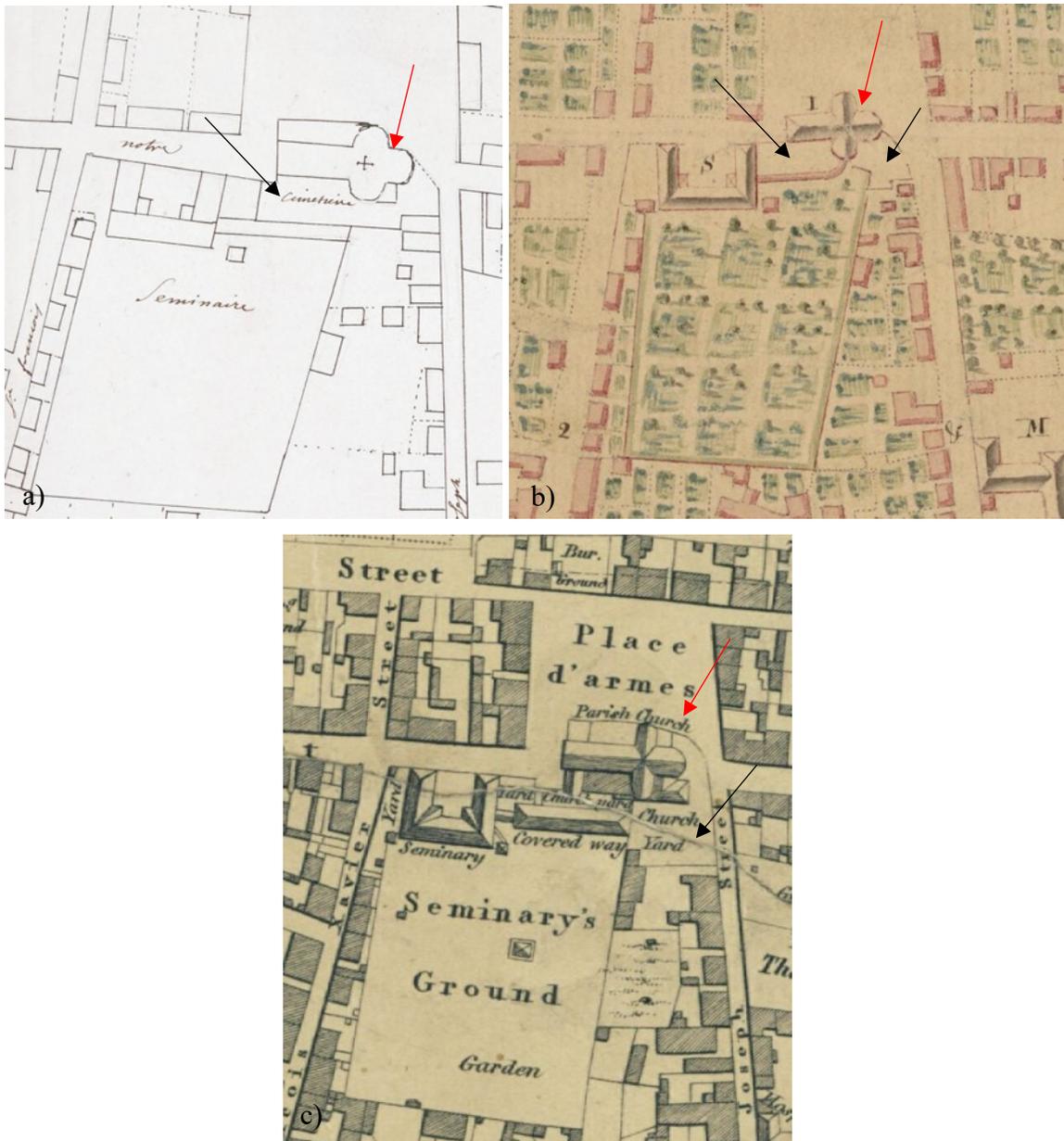


Figure 2. Cartes anciennes montrant l'emplacement de la première église Notre-Dame de Montréal (flèches rouges) et du cimetière (flèches noires). a) Plan rapproché de la ville de Montréal (Dubois Berthelot de Beauscours 1714) ; b) Plan rapproché de la ville de Montréal (Chaussegros de Léry 1717) ; c) Plan rapproché de la ville de Montréal (Bouchette 1815).

Au total, environ 20 000 individus auraient été inhumés à Montréal durant les 105 ans d'utilisation du cimetière Notre-Dame, mais ces données rassemblent tous les cimetières utilisés au même moment (Arkéos 2008a; 2008b). D'après les données d'archives, bon nombre de ces défunts étaient des enfants dont beaucoup en bas âge (Arkéos 2013a). Le profil d'âge va de pair avec la mortalité infantile élevée à l'époque. Les adolescents et adolescentes étaient moins

nombreux parmi les décès. Aussi, les femmes âgées de 30 à 40 ans avaient une mortalité plus élevée que les hommes du même âge (Arkéos 2008a; 2008b; Vigeant 2012).

Toujours d'après les données d'archives, hormis les sépultures *ad sanctos* réservées aux membres du clergé ainsi qu'à quelques privilégiés plus nantis, la plupart des défunts et défunt(e)s étaient inhumés dans le cimetière extérieur situé au sud et derrière l'église. Les sépultures étaient des sépultures individuelles empilées les unes sur les autres par manque d'espace. Aucun marqueur n'indiquait l'emplacement des sépultures et aucun mobilier funéraire n'accompagnait les défunts. Comme le montreront les interventions archéologiques, un crucifix était parfois associé à une sépulture (Arkéos 2008a; 2008b; 2013a). Certaines personnes étaient inhumées nues dans un linceul comme l'indique la présence d'épingles mises au jour par les archéologues (Arkéos 2008a; 2008b; 2013a). La plupart ont été mises au jour dans des cercueils et quelques cercueils vides ont été mis au jour au sein des vestiges de l'église (Arkéos 2008a; 2008b). Les interventions archéologiques montreront que l'orientation des sépultures était majoritairement dans un axe nord-sud, soit en direction de l'église comme le voulait la coutume¹ (Arkéos 2013a). Finalement, quelques sépultures prenaient la forme de sépultures multiples où plusieurs défunts étaient inhumés lors d'un même événement. Contrairement à la fosse commune dans laquelle les individus sont enterrés pêle-mêle et avec empressement, les sépultures multiples mises au jour ici étaient organisées et dénotaient probablement la volonté de gérer un espace d'inhumation très restreint (Arkéos 2008a; 2008b).

Au total, 40 % des individus de l'échantillon archéologique étaient des juvéniles (Arkéos 2008a ; 2008b). D'ailleurs, 42 % de ces immatures étaient des bébés de moins d'un an ou des fœtus, alors que 24 % de ceux-ci étaient âgés de 1 à 6 ans et 7,5 % avaient entre 6 et 10 ans. Pour ce qui est des adultes, ils composent 58 % de l'échantillon. Entre 18 et 30 ans, il y a autant d'hommes que de femmes dans l'échantillon, puis entre 30 et 40 ans, les femmes sont en nombre plus élevé (Arkéos 2008a ; 2008b). Enfin, les personnes plus âgées sont représentées majoritairement par des hommes dans l'échantillon.

¹ Le « nord montréalais » conventionnel git presque franc ouest, et les descriptions archéologiques suivent cette convention. L'orientation des sépultures est donc en réalité avec la tête à l'ouest cardinal et les pieds à l'est.

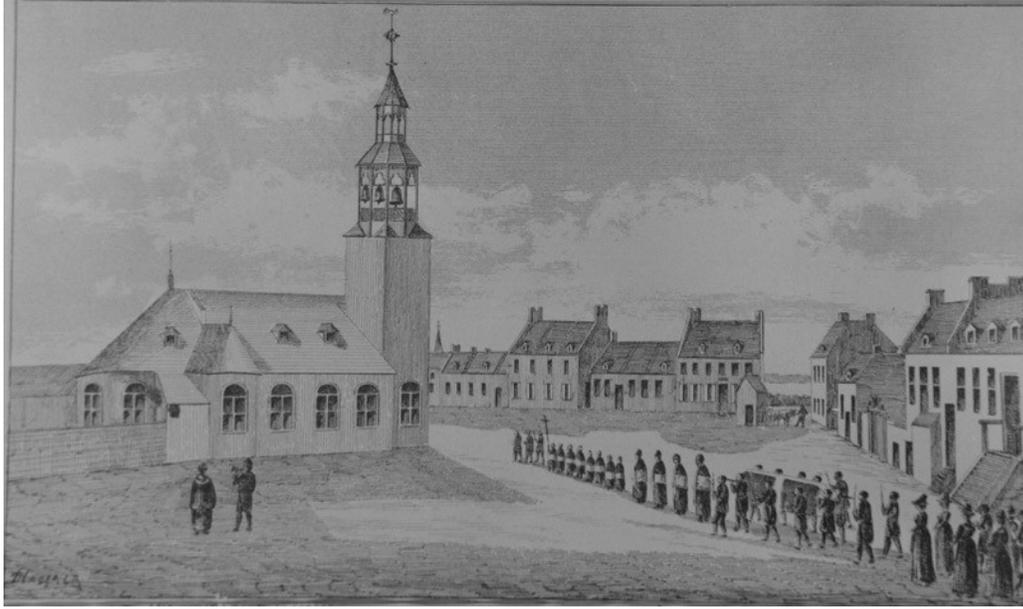


Figure 3. Gravure représentant une procession funéraire se dirigeant vers la première église Notre-Dame vers la fin du XVIIIe siècle (Kroupa s.d.).

1.4 Le cimetière de Pointe-aux-Trembles

Le cimetière de Pointe-aux-Trembles (PAT) est situé dans l'est de l'île de Montréal, dans un milieu autrefois rural à environ 16 kilomètres du Vieux-Montréal (figure 1).

1.4.1 Résumé des fouilles archéologiques

Plusieurs interventions archéologiques ont eu lieu à l'emplacement de l'ancien cimetière de Pointe-aux-Trembles (Ethnoscop 2013 ; 2015 ; 2018). Il s'agit d'un site connu qui porte le code Borden BjFi-17. L'intervention de 2014 a permis de mettre au jour 63 sépultures articulées. Leur conservation est généralement bonne, mais plusieurs ont été tronquées par les limites des sondages (Ethnoscop 2015).

1.4.2 Histoire du cimetière

Cet ancien cimetière est associé à la deuxième église de Pointe-aux-Trembles dont la construction fut terminée en 1709 et qui fut détruite par les flammes en 1937 (figure 4, figure 5). Celle-ci était située au sud-est de l'emplacement de l'église actuelle qui, elle, se trouve sur la rue

Notre-Dame Est à la jonction avec le boulevard Saint-Jean-Baptiste, au cœur du vieux village de Pointe-aux-Trembles (Desjardins 2015). Les vestiges de cette ancienne église, ainsi que d'une partie, si ce n'est pas de l'entièreté, de son cimetière se trouveraient encore dans les sols encore en place à l'est du presbytère et à l'emplacement de l'église actuelle (figure 4) (Grondin 2010 ; Ethnoscop 2013). Le cimetière paroissial associé à cette église se situait d'abord au nord (derrière), puis à l'est de l'église ainsi qu'à l'ouest² (Desjardins 2009; 2015; Edward 18-?; Hopkins 1879; Goad 1907). Celui-ci fut ouvert vers 1710 et fermé en 1843 et il a été rehaussé à plusieurs reprises. Le cimetière étant devenu trop plein, un nouveau fut ouvert en 1843 aux abords de la rue Notre-Dame, à l'ouest (sud cardinal) du couvent (figure 4) (Desjardins 2015 ; Grondin 2010 ; Ethnoscop 2013; Edward 18-?; Hopkins 1879; Goad 1907). Les sépultures entre l'église actuelle et le presbytère n'auraient pas été déplacées. Il n'est pas non plus mentionné que les sépultures associées à la première église (1678-1710), située aux environs de la rue Saint-Joseph, de la rue Sainte-Anne et de l'ancienne rue du Cimetière, aient été exhumées puis réinhumées dans le second cimetière (Desjardins 2009 ; Soucy 1999). Les sépultures au sein du deuxième cimetière dateraient donc exclusivement d'une période postérieure à la fermeture du premier cimetière. Finalement, le nouveau cimetière de 1843 fut fermé en 1912 lors de l'incendie, qui frappa Pointe-aux-Trembles (Desjardins 2009). À la suite de cet événement, on aménagea un nouveau cimetière qui correspond au cimetière actuel. Des exhumations auraient eu lieu, mais de nombreuses sépultures sont demeurées probablement en place tout autour de l'église actuelle (Grondin 2010 ; Ethnoscop 2013).

² Encore, les descriptions archéologiques suivent le « nord montréalais » conventionnel. En réalité le « nord » décrit l'ouest cardinal, et les autres directions suivent la même rotation de 90 degrés : « est » réfère au nord cardinal, et « ouest » réfère au sud cardinal.

Pointe-aux-Trembles (Hopkins 1879) ; c) Plan rapproché du village de Pointe-aux-Trembles (Goad 1907). Notons que le « nord montréalais » conventionnel est vers le haut dans les plans rapprochés : il s'agit de l'ouest cardinal.

D'après les données d'archives, plus de 2 611 défunts et défuntes ont été inhumés au cimetière de la deuxième église de Pointe-aux-Trembles, dont 72 à l'intérieur du lieu de culte (Desjardins 2015 ; Ethnoscop 2013) durant ses 133 années d'utilisation. Comme pour l'église Notre-Dame, bon nombre de ces défunts étaient des enfants dont beaucoup en bas âge (Desjardins 2015; Gutierrez 2018). Les adolescents et les jeunes hommes sont encore une fois moins nombreux.

Toujours d'après les données d'archives, environ le tiers (N= ±22) des sépultures *ad sanctos* appartenaient à des femmes et cinq appartenaient à des enfants (Ethnoscop 2013). Pour ce qui est des sépultures dans le cimetière extérieur de la deuxième église de Pointe-aux-Trembles, les sépultures étaient des sépultures individuelles empilées les unes sur les autres par manque d'espace. Aucun marqueur n'indiquait l'emplacement des sépultures et aucun mobilier funéraire n'accompagnait les défunts. Les morts étaient inhumés dans des cercueils en bois, comme l'indique la présence de clous de cercueil mis au jour par les archéologues (Ethnoscop 2013). Des épingles étaient également présentes. Les interventions archéologiques montreront que l'orientation des sépultures était majoritairement dans un axe est-ouest ou avec les pieds en direction de l'église comme le voulait la coutume (Desjardins 2015 ; Ethnoscop 2013).



Figure 5. Photographie de la deuxième église de Pointe-aux-Trembles, du presbytère, du couvent et d'un bâtiment annexe à l'église avant l'incendie de 1937 (Anonyme 19— ?).

1.5 Le cimetière de Sainte-Marie de Beauce

Terminons avec les informations recueillies qui concernent le cimetière de Sainte-Marie de Beauce (SM) situé dans le village de Sainte-Marie, à environ 40 kilomètres au sud-est de Québec (Figure 1).

1.5.1 Résumé des fouilles archéologiques

Quelques interventions archéologiques ont eu lieu à l'emplacement de l'ancien cimetière de Sainte-Marie de Beauce (Patrimoine Experts 2005 ; Ethnoscop 2006). Il s'agit d'un site connu qui porte le code Borden CcEs-1. Un total de 62 sépultures a été mis au jour : 26 sont celles d'adultes, 28 sont celles d'enfants, 3 sont celles d'adolescents et plus de 5 sont celles de fœtus ou d'enfants de moins d'un an. Les ossements étaient majoritairement bien conservés (Patrimoine Experts 2005 ; Ethnoscop 2006).

1.5.2 Histoire du cimetière

Cet ancien cimetière est associé aux églises successives de la paroisse de Sainte-Marie de Beauce. La première inhumation a lieu en 1748, soit six ans avant la construction d'une première chapelle en bois à cet endroit (L'Abbé Provost 1967; Patrimoine Experts 2005; Ethnoscop 2006). L'emplacement des lieux de cultes qui se succéderont à Sainte-Marie correspond à l'emplacement de l'église actuelle le long de la rue Saint-Antoine (figure 6, figure 7). À partir de 1781, une église en pierre remplace la chapelle en bois (L'Abbé Provost 1967). Puisque ses dimensions sont plus grandes, il faudra procéder à quelques exhumations afin de construire l'église. Le cimetière d'origine se trouvait au nord-est de l'église. En 1800, une petite chapelle servant de charnier est construite dans ce cimetière ; la date de sa démolition reste inconnue (L'Abbé Provost 1967; Patrimoine Experts 2005; Ethnoscop 2006). Un muret délimite le cimetière à partir de 1810. Faute d'espace pour procéder aux inhumations, ce dernier est rehaussé en 1840. À partir de 1856, une troisième église plus grande et qui correspond à l'église actuelle est construite par-dessus la deuxième. Puisqu'elle empiète sur le cimetière, il faudra procéder à plusieurs exhumations. En 1864, le cimetière est agrandi vers le sud jusqu'à l'extrémité du chœur de l'église, puis il est rehaussé à nouveau en 1873. Le premier cimetière fut fermé en 1878 et un nouveau fut ouvert

l'année suivante. Un total de 88 sépultures furent exhumées puis réinhumées dans le nouveau cimetière (L'Abbé Provost 1967; Patrimoine Experts 2005; Ethnoscop 2006). L'ancien cimetière fut désacralisé non officiellement à partir de 1880 et des bâtiments divers furent construits sur les vestiges de celui-ci. Bien que des travaux de nivellement du terrain du cimetière aient forcé l'exhumation d'un bon nombre de sépultures dans les années 1920 et 1940, une majorité de sépultures reposeraient toujours dans les sols entourant l'église (Ethnoscop 2006).

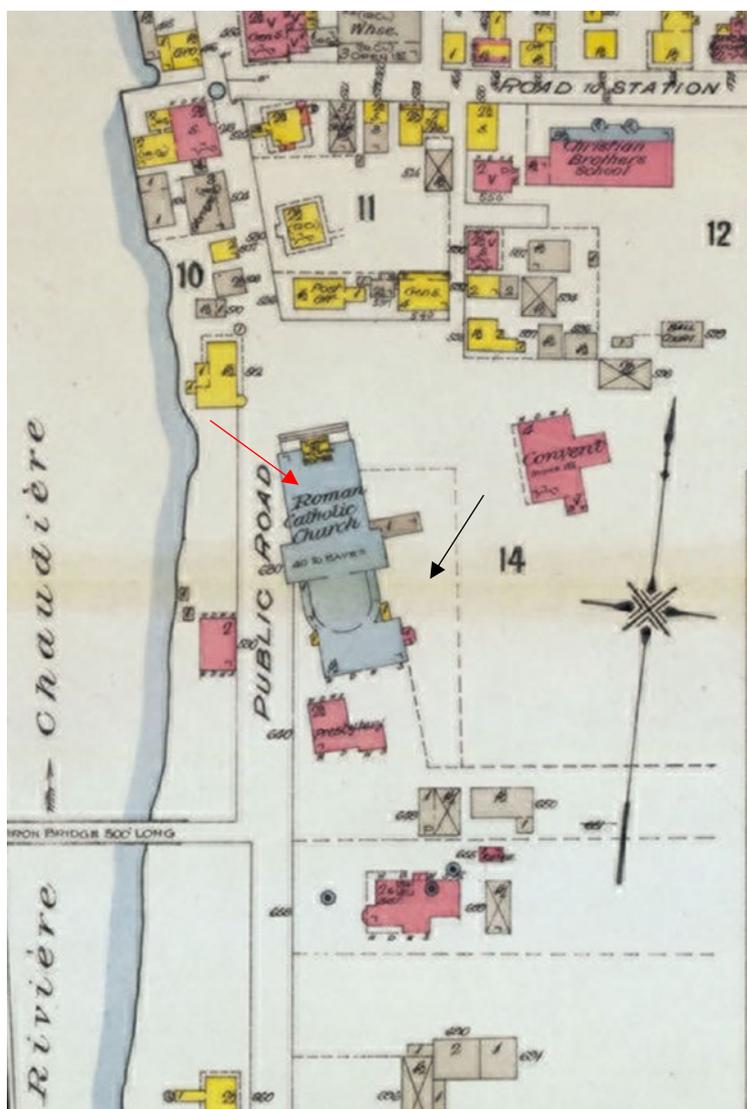


Figure 6. Carte ancienne montrant l'emplacement de l'église de Sainte-Marie de Beauce (flèche rouge) et le cimetière associé (flèche noire) (Goad 1912).

D'après les données d'archives, environ 6 934 personnes ont été inhumées au cimetière de l'église de Sainte-Marie de Beauce durant ses 130 années d'utilisation. Comme pour les églises ND et PAT, bon nombre de ces sépultures appartenaient à des enfants, dont beaucoup, en bas âge. Les femmes âgées de 20 à 50 ans étaient plus nombreuses que les hommes du même âge (Patrimoine Experts 2005 ; Ethnoscop 2006). Les adolescents et les jeunes hommes étaient encore une fois moins nombreux. Une mortalité infantile forte correspond au schéma de l'époque (Ferron 1974).

Toutes les sépultures mises au jour lors de l'intervention archéologique provenaient du cimetière extérieur de l'église de Sainte-Marie de Beauce. Il s'agit de sépultures individuelles empilées les unes sur les autres à plusieurs endroits. Aucun marqueur n'indiquait l'emplacement des sépultures et aucun mobilier funéraire n'accompagnait les dépouilles, à l'exception de deux médailles de piété qui ont été mises au jour par les archéologues (Ethnoscop 2006). Les défunts et défuntes étaient tous et toutes inhumés dans des cercueils en bois dont les traces de bois sont présentes dans les sols en plus de la quincaillerie de cercueil et de clous. Une partie des sépultures comportait des épingles, ce qui indique que les individus étaient inhumés nus dans un linceul alors que les autres sépultures contenaient des boutons, ce qui indique que les individus étaient inhumés habillés (Ethnoscop 2006). L'orientation de la tête des défunts est extrêmement variable, mais en général, le schéma dans lequel les pieds sont orientés vers l'église est respecté. Les archéologues ont également émis l'hypothèse selon laquelle il y aurait eu des lots familiaux à Sainte-Marie, bien que cette hypothèse ne soit pas confirmée (Ethnoscop 2006).



Figure 7. Photographie de l'église de Sainte-Marie de Beauce en 1920 (Anonyme 1920).

1.6 Conclusion du cadre contextuel

Un survol très rapide a été fait du contexte historique, des interventions archéologiques et des analyses bioarchéologiques des trois cimetières à l'étude. Le tableau suivant (tableau 1) résume les informations présentées plus haut.

Tableau 1. *Résumé du contexte historique et des interventions archéologiques pour les cimetières de Notre-Dame, Pointe-aux-Trembles et Sainte-Marie de Beauce.*

Cimetière	Code Borden	Dates	Interventions archéologiques	Nombre de sépultures mises au jour	Nombre de sépultures estimées
Notre-Dame	BjFj-112	1691-1796	(Arkéos 2006 ; 2008a ; 2008b ; 2010 ; 2013a ; 2013b ; Archéotec 2012)	125	20 000 répartis dans 5 cimetières de Montréal
Pointe-aux-Trembles	BjFi-17	1710-1843 1843-1912	(Ethnoscop 2013 ; 2015 ; 2018)	63	2 611
Sainte-Marie de Beauce	CcEs-1	1748-1878 1878-1880	(Patrimoine Experts 2005 ; Ethnoscop 2006)	62	6 934

Outre les raisons d'accessibilité aux collections des cimetières de Notre-Dame, Pointe-aux-Trembles et Sainte-Marie de Beauce par l'entremise du laboratoire de bioarchéologie du département d'anthropologie de l'Université de Montréal, cinq critères ont motivé l'emploi de ces trois lieux d'inhumations dans le cadre du présent projet de recherche.

- i) Nous voulions d'abord avoir des individus provenant d'un seul contexte religieux et étant de même descendance, bien que des individus de descendance diverses (ex. autochtones, afro-descendants) puissent aussi se retrouver dans les cimetières à l'étude. En effet, la grande majorité des individus devraient être de descendance européenne, et plus précisément, de descendance française.
- ii) Également, pour pouvoir faire des parallèles intéressants entre divers échantillons de populations, nous voulions idéalement avoir un échantillon urbain et un échantillon rural.

- iii) Un autre critère important était la bonne conservation des squelettes et l'intégrité des sépultures. Nous devions avoir suffisamment d'éléments ostéologiques nous permettant d'amasser le maximum d'informations sur un individu (sexe et âge), afin de pouvoir comparer les méthodologies employées.
- iv) Enfin, nous voulions sélectionner un nombre similaire de juvéniles et d'adultes pour chaque cimetière de manière à pouvoir comparer les deux groupes d'âge et aussi nous permettre d'étudier le sexe des juvéniles, un aspect souvent incomplet en contexte archéologique.

Chapitre 2 — L'application de la protéomique pour l'estimation du sexe

Il convient de présenter les différents principes théoriques relatifs à la protéomique qui orientent l'estimation du sexe d'individus archéologiques par la méthode d'extraction des protéines. Il convient aussi de considérer les multiples méthodes qui existent pour l'extraction des protéines, afin d'étayer notre choix du protocole d'extraction.

2.1 Principes de base de la protéomique et son emploi dans cette étude

Cette section vise à expliquer les principes de bases de la protéomique ainsi que la manière dont ceux-ci ont été utilisés lors de la présente étude. La protéomique est une discipline de la biochimie dérivée de la génomique, l'étude des gènes, et qui analyse les protéines. C'est l'étude du protéome, c'est-à-dire de l'ensemble des protéines exprimées dans un organisme dans le temps et l'espace. Les protéines sont exprimées par un génome donc d'après le code génétique des organismes ou des individus. Les protéines sont des macromolécules présentes dans les tissus organiques et qui exécutent des fonctions déterminées dans les organismes vivants. Une protéine est constituée de plusieurs chaînes de peptides (ou polypeptides) formées d'un grand nombre d'acides aminés. La structure des protéines est composée de quatre parties, qui, à la fin, forment un assemblage de chaînes d'acides aminés repliées sur elles-mêmes. En résumé, le noyau d'une cellule a 23 paires de chromosomes dans lesquelles se trouve l'ADN. Les gènes sont des portions d'ADN pour lesquelles il y a une combinaison spécifique de bases azotées (A-T-C-G). Avec la synthèse des protéines (figure 8), les acides aminés sont générés à partir de la lecture des bases azotées qui codent pour un gène et s'assemblent pour former des peptides, qui eux composent les protéines (Karpievitch et al. 2010; Campbell 2012).

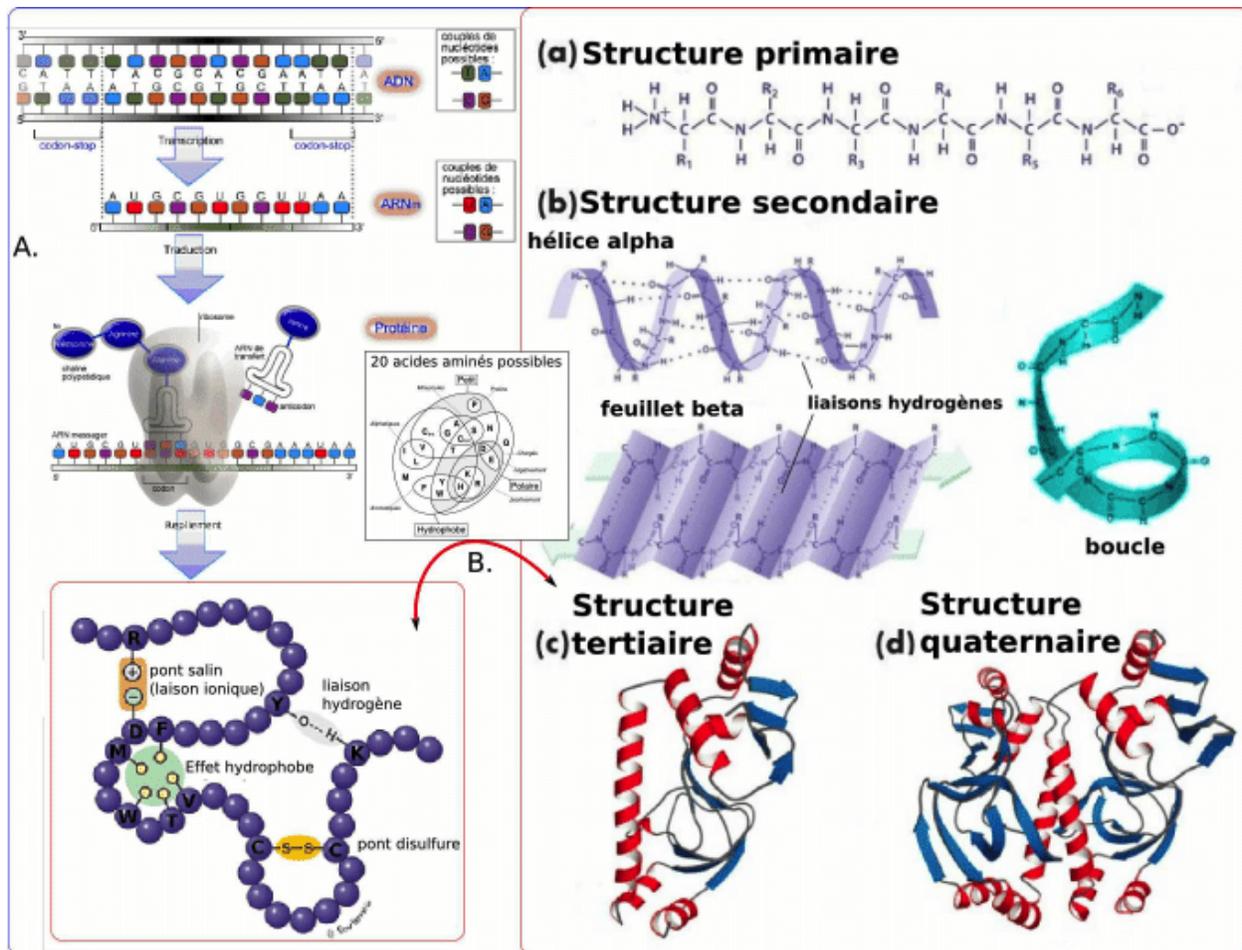


Figure 8. (A) — Étapes principales de la synthèse des protéines : transcription de l'ADN en ARNm et traduction de l'ARNm en séquence d'acides aminés ($N = 20$). **(B)** — Formation de la structure 3D de la protéine se repliant sur elle-même en quatre phases : (a) primaire, (b) secondaire, (c) tertiaire et (d) quaternaire. Schéma tiré de (Férey et al. 2009).

Contrairement à un gène, la protéine a une fonction dans l'organisme. Ce sont les protéines, par exemple, qui déterminent le phénotype. Le gène agit comme le code ou le signal qui dicte à la protéine ce qu'elle doit être ou faire (Campbell 2012). Par exemple, l'amélogénine est un constituant de la structure de l'émail dentaire pendant sa croissance (Gil-Bona et Bidlack 2020). Dans le cas des chromosomes sexuels (X et Y), les protéines ont également des fonctions qui peuvent être spécifiques à un chromosome en particulier et donc être sexuellement spécifiques. C'est-à-dire qu'au sein d'une protéine particulière, certaines chaînes de peptides ou suites d'acides aminés peuvent différer selon si elles sont associées au chromosome X ou au chromosome Y. Une même protéine ayant plusieurs formes selon la combinaison de ses chaînes de peptides se nomme une isoforme (Gunning 2006). Par exemple, l'amélogénine a une isoforme selon si elle est codée

par le chromosome X ou le chromosome Y soit les isoformes AMELX et AMELY. À partir de l'amélogénine, nous pouvons donc estimer le sexe d'individus en contexte archéologique en isolant les peptides dérivés de cette protéine de l'émail dentaire et en ciblant des séquences sexuellement spécifiques d'acides aminés connues au spectromètre de masse (MS) (Stewart et al. 2016 ; 2017 ; Parker et al. 2019 ; Lugli et al. 2019 ; Froment et al. 2020). La présence de séquences associées au chromosome Y indiquerait avec certitude que l'individu associé à la dent prélevée était un homme (Parker et al. 2019).

Discutons brièvement des principes méthodologiques de base. Lorsque l'on travaille en protéomique, dépendamment de la composition de l'échantillon, plusieurs étapes pourront être entreprises pour transformer l'échantillon en protéines analysables. Il faut d'abord faire la distinction entre le dosage, l'isolement et la séparation des protéines (tableau 2). Puis entre la déminéralisation et l'extraction des protéines pour la méthodologie qui nous concerne.

Tableau 2. *Principes de base et techniques pour l'identification de protéines.*

Principe	Objectif	Procédé
Dosage de protéines	Trouver la concentration en protéines d'un inconnu	Analyse de l'absorbance au spectrophotomètre de différentes concentrations
Isolement de protéines	Déterminer l'identité d'une protéine inconnue	Séparation des protéines et analyse d'une solution par électrophorèse ou chromatographie d'exclusion
Séparation d'acides aminés	Déterminer l'identité d'acides aminés inconnus	Séparation d'acides aminés d'une solution par chromatographie sur couche mince

2.1.1 Dosage de protéines

Le dosage de protéines consiste à préparer des solutions à diverses concentrations avec un mélange connu de protéines, afin de trouver la concentration en protéines d'un inconnu. Le dosage est constitué de plusieurs méthodes de quantification des protéines (Missihoun 2020 : 35). En établissant une courbe d'étalonnage de l'absorbance de différentes dilutions connues mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre, par exemple, on peut prédire la concentration de la solution d'un

inconnu en analysant sa réaction face à certains spectres de lumière soit son absorbance (Ninfa et Ballou 2004 ; Boyer 2012 ; Boyer 2000 ; Scopes 1974 ; Missihoun 2020 : 35).

2.1.2 Isolement de protéines

Par rapport au dosage des protéines qui tente d'établir la concentration en protéines d'une solution, l'isolement des protéines consiste à faire ressortir des protéines ou à les séparer des autres composantes des cellules. Avec l'isolement, on cherche à séparer les protéines d'une solution selon leurs propriétés, afin de déterminer l'identité d'une protéine inconnue (Ninfa et Ballou 2004 ; Boyer 2012 ; Bevilacqua et al. 2002 ; Woods et Darie 2014). Les protéines séparées peuvent être analysées de diverses manières dont par électrophorèse soit en passant un courant électrique dans un gel de polyacrylamide sur lequel différentes solutions de protéines ont été placées avec un inconnu. La couche de gel sera ensuite plongée dans un tampon. Le courant électrique et la taille des protéines font avancer la solution dans le gel et on se retrouve avec des lignes de couleur à analyser. Les différentes composantes des protéines se déplaçant à des vitesses différentes à cause de leur taille et de leur résistance au milieu sous forme de gel donnent des bandes de longueurs variées. La mesure de ces déplacements permet de déterminer la protéine présente dans une solution inconnue (Missihoun 2020 : 43-47 ; Sarma, Oehrle, et Emerich 2008).

2.1.3 Séparation d'acides aminés

La séparation d'acides aminés revient à la même chose que l'isolement des protéines, mais sur des composantes plus petites puisque les acides aminés composent les protéines (Missihoun 2020 : 67). La séparation d'acides aminés peut se faire grâce à la chromatographie dite « sur couche mince », qui a pour objectif de séparer une protéine connue en ses composantes plus précises avec un processus semblable à l'électrophorèse. La chromatographie sur couche mince se différencie de l'électrophorèse parce que le signal des protéines n'est pas recueilli sur une couche de gel, mais plutôt sur une plaque de silice. La chromatographie sépare les molécules selon diverses propriétés, dont la masse moléculaire, la charge (positive ou négative) ou l'hydrophobicité (Ninfa et Ballou 2004 ; Boyer 2012 ; Boyer 2000 ; Missihoun 2020 : 64). Les molécules voyagent à travers la silice grâce à un solvant qui se déplace sur la plaque de silice par capillarité. Comme avec l'électrophorèse, chaque molécule migre à une vitesse différente et donc sa position finale

dépend de sa résistance face au solvant et à la plaque de silice. Le solvant provoque le mouvement des molécules vers le haut et la silice freine le déplacement des molécules. La coloration de la plaque de silice se solde par des points de couleurs aux endroits précis où chaque acide aminé connu a migré. En comparant avec des points obtenus pour un inconnu, on peut déterminer quels acides aminés étaient présents dans une solution (Missihoun 2020 : 68-69). Comme pour la séparation des protéines, on cherche à séparer les acides aminés d'une solution selon leurs propriétés afin de déterminer l'identité d'un acide aminé inconnu (Woods et Darie 2014 ; Ninfa et Ballou 2004 ; Boyer 2012 ; Boyer 2000).

2.1.4 Séparation d'un mélange de protéines

Finalement, les protéines peuvent être séparées selon d'autres méthodes comme la chromatographie d'exclusion. La chromatographie d'exclusion part du même principe que la chromatographie sur couche mince : elle vise à effectuer la séparation de composés moléculaires dans un mélange grâce à la « migration différentielle de ses constituants » (Missihoun 2020 : 78). Le montage de la chromatographie d'exclusion se fait dans une colonne (un tube) et la migration s'effectue vers le bas grâce à un tampon. Le principe d'exclusion est que les molécules se sépareront d'après leur taille. En gros, les molécules plus petites passeront à travers les pores d'une membrane qui agit comme un tamis et les plus grosses ne pourront pas passer (Pratt et Cornely 2012 ; Engelhardt et Müller 1984 ; Missihoun 2020 : 79). Les petites molécules resteront prises à l'intérieur des pores. Les grosses molécules en seront donc exclues. En recueillant les composés séparés par la colonne et en mesurant leur absorbance au spectromètre de masse, nous pouvons analyser ces différents composés. En faisant un graphique de l'absorbance d'après le volume élué, et en comparant les courbes (sous forme de pics) avec des pics théoriques de molécules trop grosses (donc exclues) et de molécules très petites, nous pouvons déterminer les composants d'une solution (Missihoun 2020 : 89-90 ; Woods et Darie 2014).

2.1.5 Déminéralisation et extraction des protéines

En ce qui nous concerne, puisque nos échantillons de départ ne proviennent ni de cellules organiques vivantes ni d'un lysat cellulaire, mais plutôt de cellules minéralisées sous forme solide, nous devons d'abord déminéraliser les échantillons et en extraire les protéines pour pouvoir les

analyser (Schroeter et al. 2019). Nous aborderons cette méthodologie de manière détaillée lors de la description du protocole dans le troisième chapitre (Chapitre 3 – Matériel et méthodes : 62), mais nous nous permettons quelques commentaires ici. Comme nous venons de le voir, les recherches en protéomique visent généralement à identifier un inconnu que ce soit une protéine, des peptides ou un acide aminé ou encore à déterminer la concentration d'un inconnu. Pour ce qui est de cette étude, nous connaissons déjà la protéine que nous voulons extraire ainsi que les chaînes d'acides aminés dont nous voulons évaluer la présence dans chaque échantillon. Nous visons donc une analyse ciblée (*targeted proteomics*) qui s'oppose à une analyse quantitative, d'identification ou de séquençage (Doerr 2013 ; Marx 2013).

La déminéralisation d'un échantillon à composante minérale tel un os, une dent ou une composante organique fossilisée (ex. tartre dentaire) a pour but de transformer un échantillon solide (fragments entiers ou réduits en poudre) en solution liquide en le mettant d'abord en contact avec une solution acide, puis en effectuant plusieurs manipulations de nature chimique sur l'échantillon (Warinner, Speller, et Collins 2015 ; Hendy et al. 2018 ; Porto et al. 2011a). L'extraction des protéines a d'abord pour but de séparer les protéines des autres composantes organiques et inorganiques comme les sels se situant dans l'échantillon (Karpievitch et al. 2010). Ensuite, la purification a pour but de séparer les protéines entre elles, donc, de faire le tri entre les grosses et les petites protéines. Cela facilite la tâche au spectromètre de masse auquel on pourra donner des paramètres d'analyses plus précis et ainsi réduire la portée de l'analyse afin d'affiner sa précision. Dans notre cas, la purification s'est faite au niveau des peptides dérivés de l'amélogénine et non au niveau des protéines. La séparation des peptides entre eux peut se faire à l'aide d'une colonne de séparation selon le principe de chromatographie d'exclusion ou, dans notre cas, à l'aide d'un *ZipTip* qui est un embout de pipette contenant une colonne de séparation miniature à son extrémité permettant de filtrer des microquantités (Millipore Sigma 2021). La séparation des composantes avec un *ZipTip* se fait selon le principe d'interaction hydrophobe, c'est-à-dire que les peptides se sépareront selon leur hydrophobicité. Pour ce qui est du spectromètre de masse, on peut, par exemple, lui indiquer de chercher des peptides qui se situent entre une masse x et une masse y. Dans d'autres contextes, les protéines peuvent subséquemment passer par une étape de digestion, si on désire séparer les protéines elles-mêmes en composantes plus petites tels que des peptides qui seront ensuite purifiés. La digestion des protéines n'est pas

essentielle dans tous les protocoles (Karpievitch et al. 2010; Woods et Darie 2014). Comme nous le verrons dans le chapitre suivant, la digestion des protéines n'a pas été nécessaire pour nos échantillons. En contexte archéologique, la nature aura déjà effectué le travail de digestion dans les sols. C'est pourquoi les composantes récoltées *in situ* sont des peptides provenant de protéines dégradées (Tagnon Missihoun, 2023, communication personnelle).

2.2 Fonctionnement du spectromètre de masse pour l'analyse des protéines

Nous verrons maintenant comment fonctionne un spectromètre de masse (MS), l'outil d'analyse qui permet d'identifier des protéines inconnues ou ciblées (figure 9). Pour résumer, l'échantillon contenant des peptides (pour nous sous forme liquide) est injecté dans l'appareil et bombardé avec des électrons et l'échantillon est ionisé. Les ions de l'échantillon ainsi produits sont détectés par l'appareil selon le ratio de la masse sur la charge (m/z) de chaque ion. Lors du passage dans le MS, les différentes chaînes de peptides se retrouvent fractionnées par clivage et libèrent ainsi des ions. La détection des ions associés à un clivage particulier d'acides aminés formant un peptide précis, ainsi que l'intensité à laquelle ceux-ci sont présents, est représentée par des spectres de masse.

Un spectre de masse consiste en une série de pics de l'intensité de la présence d'ions particuliers dans le temps d'analyse qui nous permettent de confirmer la présence ou l'absence d'un peptide dans chaque échantillon. Le type de clivage (ions y et ions b) permet au spectromètre de masse de déterminer la séquence d'acides aminés d'un peptide. En reconstituant ces coupures, il est possible de reconstituer un peptide et donc de l'identifier, de le quantifier ou de confirmer sa présence selon ce que nous désirons obtenir comme résultats (Karpievitch et al. 2010; Woods et Darie 2014).

Lors d'une analyse d'identification ou de quantification, les protéines (ou peptides) présentes dans un échantillon quelconque sont inconnues et seront identifiées selon les spectres de leur masse qui seront comparés à des spectres de masse théoriques connus pour un grand nombre de protéines provenant d'un grand nombre d'espèces vivantes à partir de bases de données comme UniProt, Mascot ou SwissProt. Le spectromètre de masse peut également utiliser ces masses pour faire le séquençage des protéines présentes dans un échantillon. C'est-à-dire que les protéines

seront décomposées en leurs composantes plus petites, soit des peptides, des polypeptides ou des acides aminés et qu'une fois ces composantes mises bout à bout, la protéine résultante pourra être identifiée (Karpievitch et al. 2010; Newton et al. 2004). Lors d'une analyse ciblée, le MS peut détecter une chaîne de peptide à l'aide de l'identification d'une suite d'acides aminés précise la composant ou encore d'après sa masse théorique connue. Cette dernière approche est celle que nous avons utilisée (Doerr 2013 ; Marx 2013).

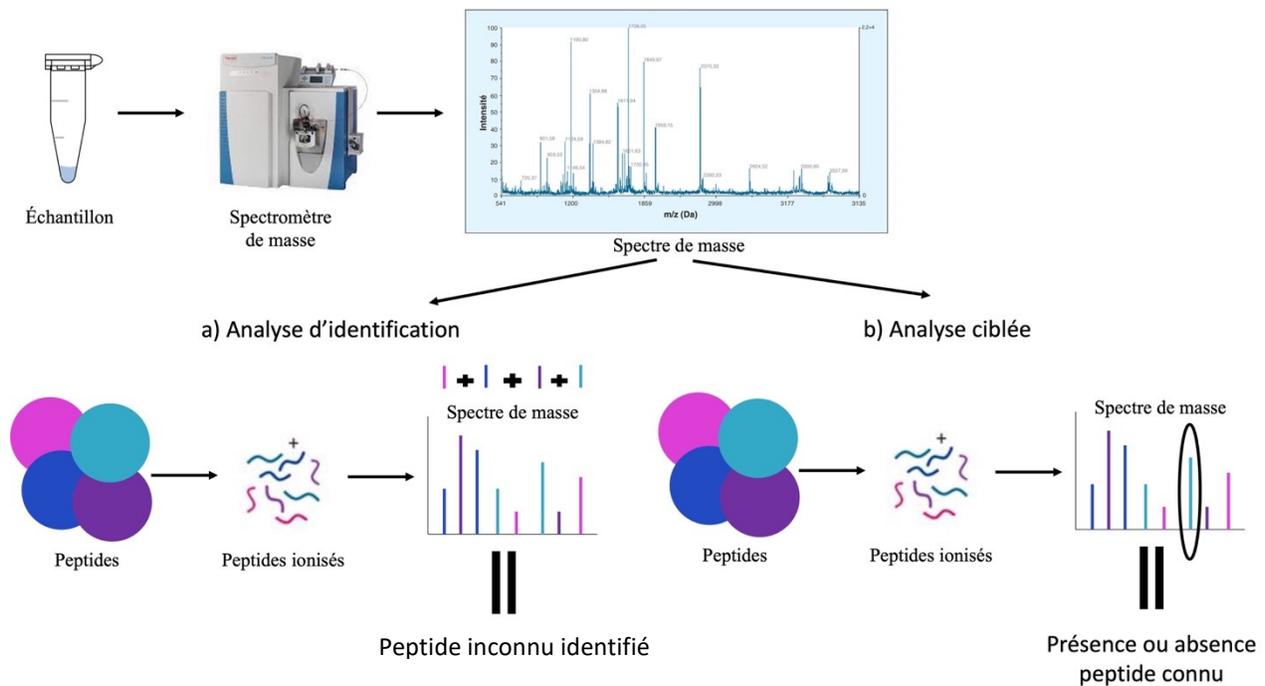


Figure 9. Schématisation du fonctionnement d'un spectromètre de masse pour l'analyse d'identification (a) et l'analyse ciblée (b) des peptides (élaboré par Jade Parent 2023 à partir de Doerr 2013 ; Stewart et al. 2016, 2017).

2.3 Étudier le passé par l'étude du squelette

Cette nouvelle section permettra de comprendre la pertinence du matériel dentaire en bioarchéologie et en particulier pour la protéomique.

2.3.1 Les os comme matériel d'étude

Lorsqu'on étudie des restes humains archéologiques, plusieurs tissus peuvent être analysés. Les plus évidents sont les os et les dents. Voyons tout d'abord la composition des os, les manières dont nous pouvons les utiliser en bioarchéologie ainsi que leurs limites en tant que matériel.

Les os ont une portion organique et une portion minérale. Ils sont composés à environ 25 % de tissu organique, dont 90 % sont du collagène, et à 60 % de cristaux d'hydroxyapatites (HA) qui constituent la portion minérale (Lynnerup et Klaus 2019 ; White et Folkens 2005). En ce qui concerne les recherches biochimiques et géochimiques du squelette, le collagène est utilisé pour les études d'ADN, les analyses isotopiques utilisant le carbone (C) et l'azote (N), la datation au radiocarbone et les analyses de dégradation osseuse entre autres. La portion minérale de l'os est utilisée également pour les analyses de carbone, mais aussi de l'oxygène (O) et des éléments traces. Les analyses isotopiques permettent d'analyser, entre autres, la migration, l'alimentation et le sevrage (Sandberg et al. 2014; Katzenberg 2008).

Les limites de l'os comme matériel résident dans sa composition. Puisqu'il a une portion organique relativement grande, l'os est plutôt prompt à la dégradation *post-mortem*. En effet, les processus taphonomiques relevant de la composition du sol (ex. acidité) agissent avec les composantes de l'os et peuvent le dégrader plus ou moins rapidement. Les éléments organiques moléculaires contenus dans la matrice organique de l'os tels l'ADN et les protéines se conservent donc moins bien que les éléments inorganiques (White, Black, et Folkens 2012 ; Denys et Patou-Mathis 2014). Aussi, comme les os sont sujets au remodelage *in vivo*, les constats en lien avec l'histoire de vie des individus concernent seulement les derniers mois ou années du vivant de l'individu. C'est-à-dire qu'à l'âge adulte, par exemple, les os ne permettent qu'une analyse limitée de l'enfance puisque les os se sont probablement remodelés durant le passage de l'enfance à l'âge adulte (White et Folkens 2005 ; White, Black, et Folkens 2012).

2.3.2 Les dents comme matériel d'étude

Pour ce qui est des dents, elles sont composées de trois tissus principaux : la dentine, l'émail et le ciment (figure 10). L'émail est le tissu qui nous intéresse particulièrement pour cette

étude. La dentine et le cément ont une proportion de tissus organiques et inorganiques similaire aux os (environ 60 % inorganique, 40 % organique). L'émail, quant à lui, est majoritairement minéral. Il est composé à 96 % de cristaux d'hydroxyapatites et à 4 % de collagène et d'eau (Lynnerup et Klaus 2019; White et Folkens 2005). En ce qui concerne les recherches biochimiques et géochimiques sur les dents, la dentine, plus organique, est utilisée pour les analyses isotopiques utilisant le carbone et l'azote. La portion minérale de l'émail est utilisée également pour les analyses de carbone, mais aussi de l'oxygène et des éléments traces (Sandberg et al. 2014; Katzenberg 2008).

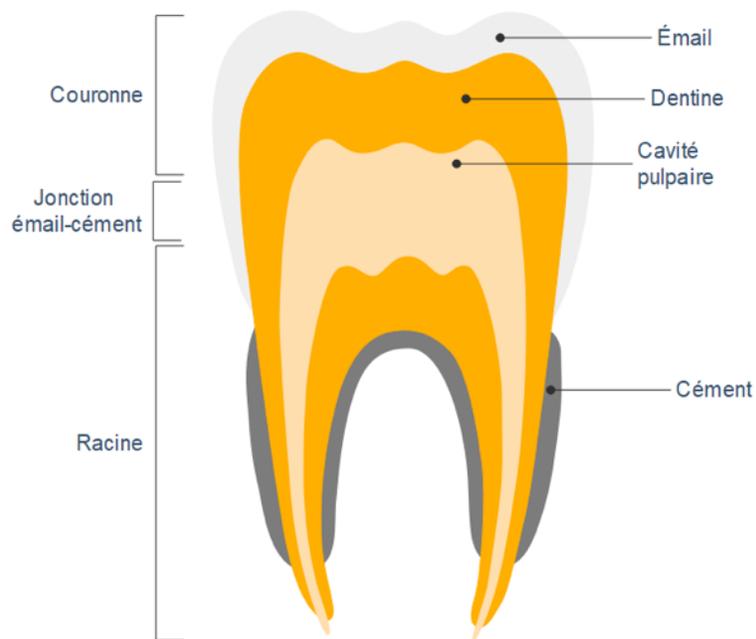


Figure 10. Illustration schématique d'une molaire permanente montrant les différentes structures (générée par Jade Parent 2023 sur le logiciel Edraw : <https://www.edrawsoft.com/fr/infographics/medical-infographics.html>).

Du fait de leur composition, les dents sont moins sujettes à la dégradation que les os. Ce sont d'ailleurs souvent les éléments du squelette les mieux conservés en contexte archéologique (White, Black, et Folkens 2012). Comme des composantes extérieures peuvent moins facilement pénétrer une matrice minérale, les dents sont également moins sujettes à la contamination (Hillson 1986). Aussi, les dents ne sont pas sujettes au remodelage à la suite de leur croissance. Des constats concernant l'histoire de vie des individus peuvent être faits à partir de l'analyse de différentes parties d'une dent. C'est-à-dire qu'on peut faire des constats pour chaque étape de croissance d'une

dent (figure 11). Via une technique de micro-échantillonnage dans les couches successives du tissu dentaire, on pourrait donc situer assez précisément dans le temps (ex. entre 1 an et 1,5 an) une période de carence alimentaire par exemple (Kinaston et al. 2019; D’Ortenzio et al. 2016). Le matériel dentaire est donc très précieux et important en bioarchéologie puisqu’il est souvent mieux conservé que les os en contexte archéologique, et ce, même dans des sols acides comme au Québec. Il en va de même pour les structures microscopiques organiques (ex. protéines) qui se trouvent prisonnières dans les cristaux d’hydroxyapatites et qui peuvent être libérées par la déminéralisation chimique d’un échantillon (Gil-Bona et Bidlack 2020; Demarchi et al. 2016; Mitsiadis et al. 2014; Simmer et Fincham 1995; Tarasevich et al. 2007; Robinson et al. 1998).

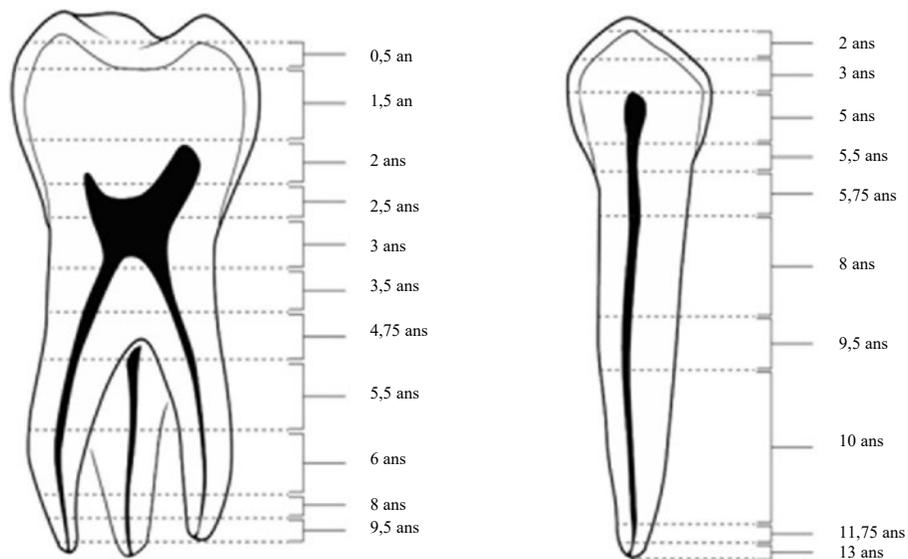


Figure 11. Âge dentaire selon la croissance d’une molaire permanente (à gauche) ou d’une canine permanente (à droite) (D’Ortenzio et al. 2016).

2.3.3 Développement et croissance de la dent et de l’émail

La différenciation sexuelle au niveau chromosomique (XX ou XY) a lieu au stade embryonnaire une ou deux semaines après la conception (Arboleda, Quigley, et Vilain 2016). La différenciation des organes sexuels externes *in utero* s’amorce entre 8 et 14 semaines de grossesse. Les composantes dentaires des dents déciduales commencent à se différencier *in utero* vers 18 à 21 semaines environ (Mitsiadis et al. 2014; Hillson 1986). Plus précisément, la formation de l’émail débute vers la trentième semaine (Mitsiadis et al. 2014). Comme la détermination du sexe *in utero* précède le développement dentaire, il va sans dire que des protéines de l’émail dentaire

spécifiques au sexe comme l'amélogénine devraient se retrouver dans les dents de tous les individus qu'ils soient des fœtus ou des adultes. Lors de la croissance d'une dent, la couronne est la première à se développer à partir d'un bourgeon dentaire formé de cellules épithéliales qui se minéralisent sous forme d'un germe dentaire composé d'émail. Cette phase est suivie du développement de la dentine située sous la couche d'émail, puis de celui de la racine qui s'allonge vers l'apex jusqu'à atteindre sa taille finale (figure 12). Le même processus de croissance s'applique aux dents déciduales et aux dents permanentes (Kinaston et al. 2019; Lynnerup et Klaus 2019).

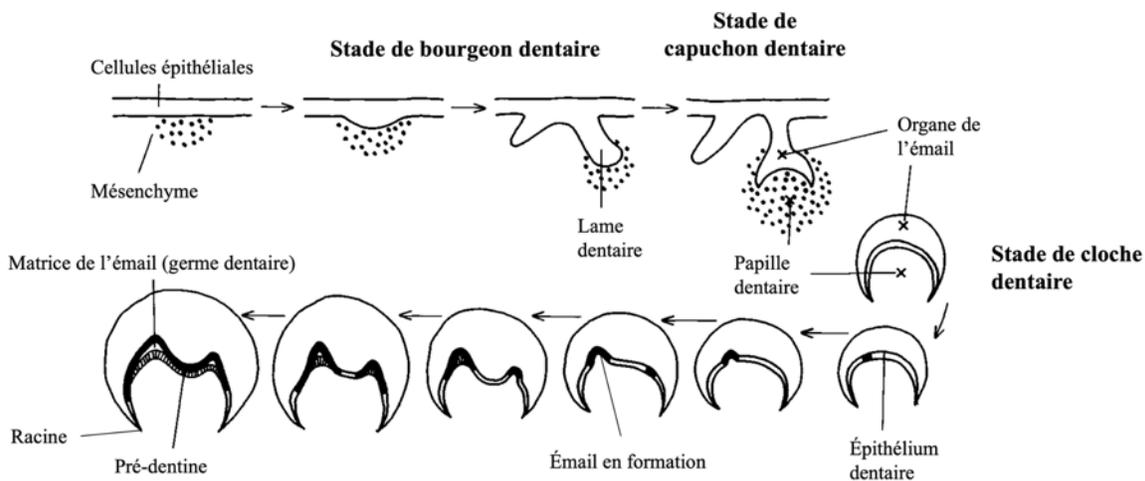


Figure 12. Croissance de l'émail dentaire à partir de cellules épithéliales (à partir de Hillson 1996 : 119).

Trois protéines principales jouent un rôle dans la croissance et la minéralisation subséquente de l'émail soit l'amélogénine, l'énaméline et l'améloblastine (Gil-Bona et Bidlack 2020 ; Mitsiadis et al. 2014 ; Bansal et al. 2012 ; Simmer et Fincham 1995 ; Robinson et al. 1998 ; Tarasevich et al. 2007). Nous mettrons l'accent sur l'amélogénine puisqu'il s'agit de la protéine sexuellement spécifique qui nous intéresse. L'amélogénèse est le processus par lequel les portions organiques et inorganiques de la dent en croissance se développent et se minéralisent. L'amélogénine compose environ 90 % de la matrice de l'émail lors de sa croissance (Bansal et al. 2012; Simmer et Fincham 1995 ; Nanci 2017). Après l'amélogénèse, l'émail est composé à 96 % d'une matrice inorganique de cristaux d'hydroxyapatites. À ce stade, les protéines constituent moins de 10 % de la structure de l'émail minéralisé (Bansal et al. 2012; Nanci 2017).

L'amélogénèse se fait en deux étapes : la sécrétion et la maturation (Simmer et Fincham 1995 ; Gil-Bona et Bidlack 2020 ; Hillson 1996 ; Nanci 2017). Durant l'étape de sécrétion, des cellules appelées améloblastes sont sécrétées pour former une matrice organique composée de protéines. La compaction de la matrice organique avec des cristaux inorganiques par les améloblastes forme des dépôts de bandes avec une protubérance appelées les processus de Tomes qui donnent sa forme à la couronne dentaire. Ce sont les améloblastes qui construisent la matrice de l'émail et l'amélogénine qui lie les cristaux d'hydroxyapatites entre eux (Hillson 1996 ; 1986 ; Gil-Bona et Bidlack 2020). Une fois la croissance achevée, lors de l'étape de maturation, l'émail se solidifie progressivement dans un processus de minéralisation. Pour ce faire, la protéase, une enzyme, détruit les protéines et les cristaux s'étendent dans l'espace disponible, ce qui achève la formation de l'émail (Hillson 1996 ; 1986 ; Nanci 2017). Cependant, quelques protéines demeurent prisonnières des différentes couches de cristaux de l'émail minéralisé, c'est pourquoi il est possible d'extraire les peptides dérivés de ces protéines même chez un individu inhumé depuis des centaines voire des milliers d'années (Hillson 1986). En effet, comme elles sont prises à l'intérieur d'une matrice minérale solide, les peptides dérivés des protéines de l'émail comme l'amélogénine sont peu sujets à la contamination extérieure et leur conservation est souvent excellente.

2.4 Applications de la protéomique à la bioarchéologie

En plus de l'estimation du sexe, la protéomique a de nombreuses applications en archéologie telle que dans les domaines de la paléodiète et de la paléopathologie.

2.4.1 Paléodiète et paléopathologie

Beaucoup d'études bioarchéologiques veulent explorer l'alimentation des populations passées par l'analyse des protéines prisonnières du tartre dentaire (Hong et al. 2012; Buckley, Melton, et Montgomery 2013 ; Warinner et al. 2015 ; Mackie et al. 2017 ; HENDY et al. 2018 ; Geber et al. 2019). En isolant les protéines du tartre, on peut reconnaître des protéines spécifiques à certains aliments. Par exemple, la protéine α -S1-caséine dans le lait, comme on peut le voir souligné dans la figure 13, a une séquence spécifique selon l'espèce animale (Buckley, Melton, et Montgomery 2013). Elle permet donc de déterminer quelle espèce était exploitée pour son lait.

Nommons également les applications en paléopathologie qui utilisent le protéome des bactéries buccales présentes dans le tartre dentaire pour déterminer si l'individu était atteint de pathologies dentaires (ex. périodontie), pulmonaires ou même digestives (Haigh et al. 2010; Warinner et al. 2014 ; Warinner, Speller, et Collins 2015 ; Jersie-Christensen et al. 2018). Le protéome peut également être extrait des os pour déterminer l'état de santé d'individus (Sawafuji et al. 2017 ; Multari 2019). La protéomique peut également être appliquée aux études paléoenvironnementales avec les microorganismes dans le sol (Oonk, Cappellini, et Collins 2012 ; Renella et al. 2014), en génétique des populations, en paléoparasitologie ainsi que pour déterminer l'ancienneté relative d'un spécimen (Buckley 2019).

Vache	MKLLILTCLVAVALARPKHPKHQGLPQEVLNENLLRFFVAPFPEVFGKEKVNELSKDIG SESTEDQAMEDIKQMEAESISSSEIIVPNSVĒQKHIQKEDVPSERYLGYLEQLRLKKYK VPQLEIVPNSAEĒRLHSMĒĒGIHAQQKEPMIGVNQELAYFYPELFRQFYQLDAYPSGAWY YVPLGTQYTDAPSFSDIPNPIGSENSĒKTTMPLW
Brebis	MKLLILTCLVAVALARPKHPKHQGLSSEVLNENLLRFVAPFPEVFRKENINELSKDIG SESTEDQAMEDAKQMKAGSSSSSEIIVPNSAEQKYIQKEDVPSERYLGYLEQLRLKKYK VPQLEIVPKSAĒĒQLHSMĒĒGPNPAHQKQPMIAVNQELAYFYPQLFRQFYQLDAYPSGAWY YLPLGTQYTDAPSFSDIPNPIGSENSGKITMPLW
Chèvre	MKLLILTCLVAVALARPKHPINHRGLSPEVPNENLLRFVAPFPEVFRKENINELSKDIG SESTEDQAMEDAKQMKAGSSSSSEIIVPNSAEQKYIQKEDVPSERYLGYLEQLRLKKYK VPQLEIVPKSAĒĒQLHSMĒĒGPNPAHQKQPMIAVNQELAYFYPQLFRQFYQLDAYPSGAWY YLPLGTQYTDAPSFSDIPNPIGSENSGKITMPLW

Figure 13. Séquence des acides aminés de la protéine α -S1-caséine pour la vache, la brebis et la chèvre (Buckley, Melton, et Montgomery 2013).

2.4.2 Estimation du sexe

Maintenant que nous avons passé en revue les différentes applications de la protéomique dans le domaine de la bioarchéologie, voyons l'application qui nous intéresse dans le cadre de ce projet de recherche, c'est-à-dire, l'estimation du sexe d'individus en contexte archéologique. Comme nous l'avons expliqué précédemment à la section 2.1 Principes de base de la protéomique (p. 39), les peptides dérivés des protéines peuvent avoir des formes différentes selon s'ils sont associés au chromosome X ou au chromosome Y ; ce sont des isoformes. C'est le cas de l'amélogénine qui a une fonction dans la croissance et la minéralisation de l'émail des dents. En effet, les isoformes de l'amélogénine, AMELX et AMELY sont faites de chaînes de peptides identiques à quelques exceptions près. En particulier, certaines suites d'acides aminés varient pour AMELY, lorsque l'individu est un homme (Stewart et al. 2016 ; 2017 ; Parker et al. 2019).

2.5 Méthodes d'extraction des protéines

Comme notre objectif était d'extraire les peptides dérivés de l'amélogénine de l'émail d'individus provenant de contextes archéologiques (et d'y cibler les chaînes de peptides nous permettant d'estimer leur sexe), nous passons ici en revue les différentes méthodes d'extraction des protéines. Nous avons résumé treize études sur l'estimation du sexe à l'aide de la protéomique en contexte archéologique (Nielsen-Marsh et al. 2009; Porto et al. 2011a ; 2011b ; Castiblanco et al. 2015 ; Stewart et al. 2016 ; 2017 ; Gowland et al. 2021 ; Rebay-Salisbury et al. 2020 ; Lugli et al. 2019 ; 2020 ; Wasinger et al. 2019 ; Parker et al. 2019 ; Froment et al. 2020). Nous avons ainsi compilé les méthodes pour pouvoir mieux les comparer et en tirer des généralités qui nous ont permis de choisir le protocole présenté dans le chapitre suivant. Les présentations sommaires des figures 14 et 15 résument ces différentes études. Un tableau contenant le détail des protocoles de chacune se trouve en annexe (annexes #1).

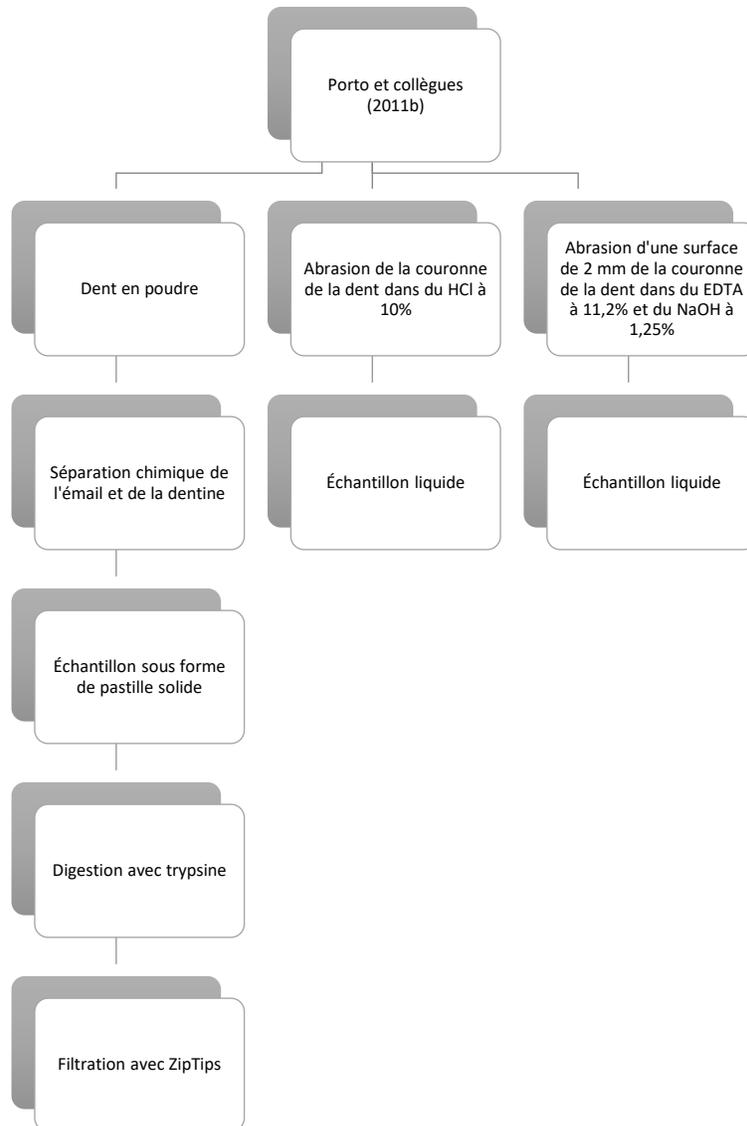


Figure 14. Résumé présentant les éléments principaux des protocoles d'extraction des protéines de l'émail des dents utilisés par Porto et collègues (2011b) (créé par Jade Parent 2023).

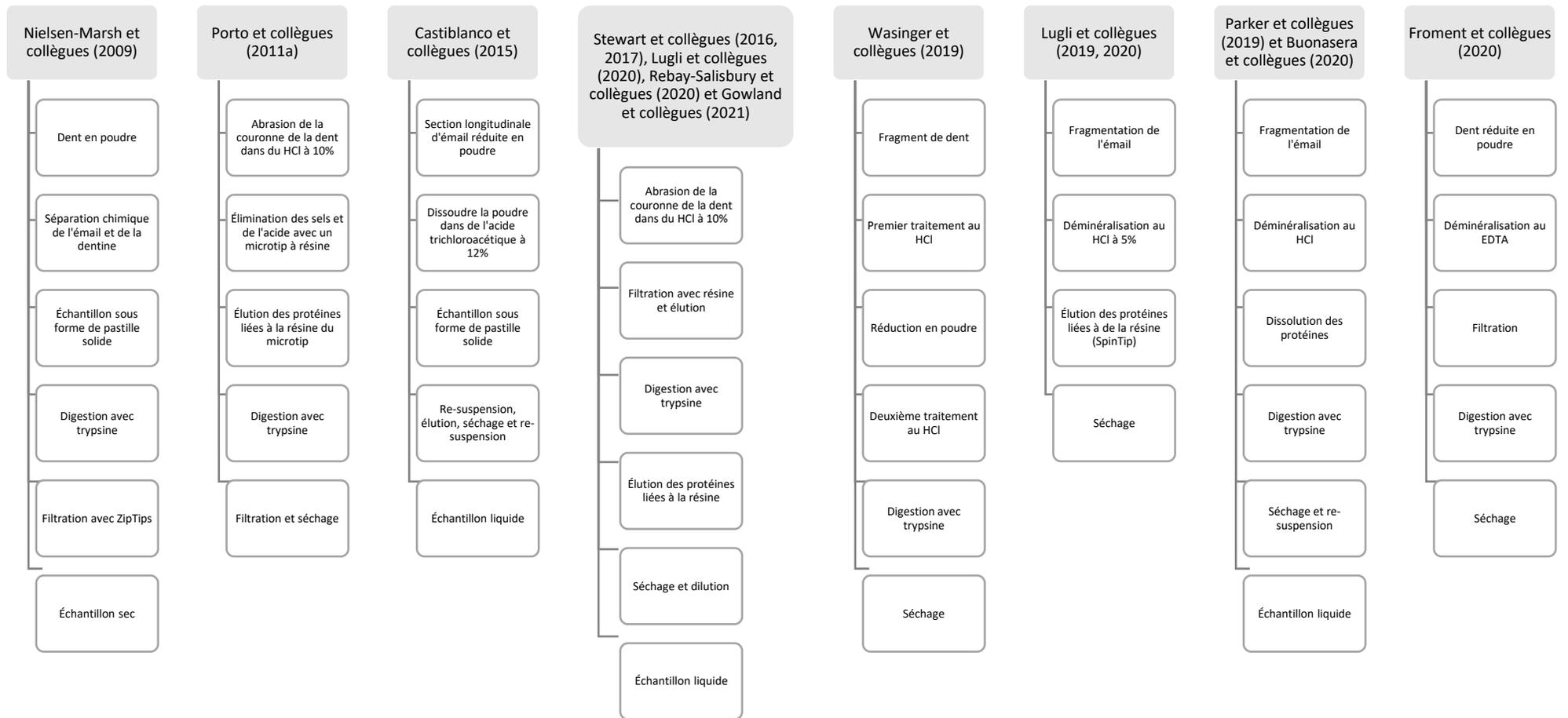


Figure 15. Résumé présentant les étapes principales des différents protocoles d'extraction des protéines de l'émail dentaire (créé par Jade Parent 2023).

À la suite de cette compilation de méthodes, nous résumons donc, au tableau 3, les éléments importants qui nous ont permis de décider de la meilleure méthode à adopter pour notre protocole.

Tableau 3. *Résumé des différentes méthodes d'extraction des protéines à partir de l'émail des dents pour estimer le sexe d'individus archéologiques.*

Forme de l'échantillon de départ	À partir de la couronne complète	À partir de fragments de couronne	À partir de la surface de la couronne	À partir d'une partie de la surface de la couronne
Méthodologie	Réduire en poudre	Réduire en poudre	Abrasion à l'acide de la couronne	Abrasion à l'acide de la couronne, localisée
Échantillon à analyser au MS	Sec	Liquide ou Sec	Liquide ou Sec	Liquide

Il appert donc qu'il y a quatre façons d'extraire les protéines pour l'analyse au spectromètre de masse. La première consiste à réduire la couronne complète en poudre et à ajouter plusieurs solvants pour finalement obtenir un échantillon sec à analyser. La méthode comprend une étape de digestion des protéines (Porto et al. 2011b ; Wasinger et al. 2019 ; Froment et al. 2020). La deuxième consiste à réduire en poudre des fragments de la couronne (entre 10 et 35 mg). Certains auteurs analysent un échantillon sec (Nielsen-Marsh et al. 2009; Lugli et al. 2019) et d'autres un échantillon liquide (Castiblanco et al. 2015; Parker et al. 2019 ; Buonasera et al. 2020 ; Lugli et al. 2020). De plus, certains auteurs ne font pas l'étape de digestion des protéines pour cette méthode (Castiblanco et al. 2015; Lugli et al. 2019 ; 2020). La troisième vise à extraire les protéines à l'aide d'une abrasion à l'acide de la surface de la couronne. Cette méthode comprend une étape de digestion des protéines sauf pour une des méthodes utilisées dans l'étude de Porto et collègues (2011b). L'échantillon final peut être sec (Porto et al. 2011a) ou liquide (Porto et al. 2011b ; Stewart et al. 2016 ; 2017 ; Gowland et al. 2021 ; Rebay-Salisbury et al. 2020). La quatrième méthode consiste également en une abrasion de la surface de l'émail à l'acide, mais la surface abrasée est localisée sur la couronne. Il n'y a pas d'étape de digestion des protéines et l'échantillon à analyser est liquide (Porto et al. 2011b).

Porto et collègues (2011b) comparent trois de ces méthodes et listent des avantages et des désavantages pour chacune (figure 14). Nous nous sommes servis de cette comparaison pour éclairer notre choix de protocole. L'avantage de réduire la couronne de la dent en poudre est que,

théoriquement, un échantillon plus grand donnerait un plus grand nombre de protéines. Comme nous connaissons la protéine que nous cherchons, il n'est pas utile pour nous d'extraire un grand nombre de protéines, mais d'avoir le maximum de chaînes d'acides aminés pour la protéine connue. Le principal désavantage est qu'un plus grand volume de matériau au départ demande plus de transformations et donc, plusieurs informations peuvent être perdues lors du processus d'extraction. Également, dans un contexte archéologique où la préservation des restes humains pour des raisons éthiques et pratiques est importante, réduire une dent en poudre est une méthode extrêmement destructrice et peu économe.

La technique avec l'immersion de la couronne dans un acide a l'avantage d'être moins complexe. Les échantillons de peptides obtenus sont également suffisants pour permettre l'identification correcte de peptides spécifiques. Aussi, réduire le nombre de manipulations empêche la perte d'information de même que la contamination avec le collagène de la dentine (Porto et al. 2011a : 86). De plus, elle permet de conserver l'intégrité de la dent puisque l'abrasion de la surface est minimale. Le principal désavantage est de ne pas pouvoir atteindre les peptides qui se situeraient plus profondément dans l'émail. Cela est particulièrement important sachant que l'émail se construit par dépôts successifs. L'amélogénine, la protéine que nous voulons étudier a d'ailleurs comme fonction d'aider à la croissance de l'émail. Il nous paraît donc important d'avoir des peptides de différents niveaux de la dent. Cependant, plusieurs immersions successives dans l'acide pourraient régler ce problème. Dans leur étude (Porto et al. 2011b), cette méthode a permis d'identifier avec succès plus de peptides (dont AMELX et AMELY) qu'avec les autres méthodes qui n'identifiaient que AMELX ou encore d'autres protéines de l'émail comme l'améloblastine. Finalement, l'abrasion à l'acide ciblée a comme seul avantage d'être peu invasive, mais n'a pas donné de résultats concluants pour l'identification des peptides, probablement parce que l'acide n'a pas atteint des couches plus profondes de l'émail (Porto et al. 2011b).

Plusieurs études récentes ont d'ailleurs appliqué certains de ces protocoles pour estimer le sexe des individus à l'étude sans que l'accent de leur projet de recherche soit nécessairement de comparer des méthodes d'estimation du sexe (Kimsis et al. 2022 ; Kaupová et al. 2022 ; Casas-Ferreira et al. 2022 ; Haas et al. 2020 ; Rebay-Salisbury et al. 2022 ; Buonasera et al. 2022 ; Gasparini et al. 2022).

Nous avons donc conclu que l'extraction des protéines à l'aide d'une abrasion à l'acide de l'émail était la méthode que nous devons adopter pour notre protocole puisqu'elle permet de conserver l'intégrité de la dent. Elle demande moins de manipulations tout en étant aussi efficace que les méthodes qui réduisent la dent en poudre, surtout si on atteint ici les couches profondes avec une immersion prolongée dans l'acide.

2.6 Problématique et questions de recherche

En tenant compte des principes de base de la protéomique, il est possible de formuler une problématique et ainsi définir nos questions de recherche.

2.6.1 Problématique

L'estimation du sexe des individus en contexte archéologique est essentielle pour plusieurs volets de la bioarchéologie (ex. paléodémographie, paléopathologie), car elle permet de mieux comprendre l'organisation interne d'un cimetière en fonction de la mortalité/morbidité à une époque étudiée (Humphrey, Bello, et Rousham 2012). Afin d'analyser la mortalité d'une population en fonction du sexe et de l'âge des individus mis au jour, de nombreuses méthodes ont été développées dans les dernières décennies. Pour estimer le sexe des individus adultes, les approches morphologiques et morphométriques sur les os du bassin et du crâne sont les plus courantes (Buikstra et Ubelaker 1994 ; White et Folkens 2005 ; Murail et al. 2005). Cependant, ces méthodes sont critiquées chez les juvéniles puisque les traits principaux se développent à la puberté (Schutkowski 1993 ; Vlak, Roksandic, et Schillaci 2008). De plus, en contexte archéologique, la conservation des os influence grandement l'observation des traits. L'ADN ancien est aussi une méthode fiable pour déterminer le sexe, mais elle s'avère très coûteuse et elle est affectée par de nombreuses variables (ex. conservation, contamination) (Stewart et al. 2017).

Nous utilisons donc une méthode de protéomique récemment développée (Stewart et al. 2016 ; 2017) et qui permet de déterminer plus efficacement le sexe d'individus juvéniles et adultes, voire de compléter ou d'infirmer les estimations ostéologiques antérieures. La méthode utilise ici l'amélogénine, une protéine sexuellement spécifique issue de l'émail des dents. Elle a l'avantage d'être basée sur les tissus dentaires, mieux conservés que les os en contexte archéologique (Porto

et al. 2011a). Pour extraire les peptides dérivés de l'amélogénine, nous avons eu recours à une abrasion de l'émail par une solution acide. Cette approche est minimalement destructrice, car elle permet de conserver l'intégrité de la dent (Porto et al. 2011a ; 2011b ; Stewart et al. 2016 ; 2017). En revanche, jusqu'à présent, elle ne semble pas encore avoir été appliquée sur une population euro-canadienne historique, malgré sa fiabilité et son taux de succès maximal. Cette approche a été appliquée avec succès sur les échantillons suivants : sur des troisièmes molaires (M3) d'individus adultes extraites sur des patients modernes du Brésil (Porto et al. 2011b) et des États-Unis (Parker et al. 2019); des premières molaires (M1) et des M3 archéologiques d'adultes provenant de contextes préhistoriques en Californie et au Pérou datant de 400 à 7 300 ans avant le présent; et sur des dents déciduales autochtones de la vallée du Mississippi (environ 1000 ans avant le présent) et euro-américaines datant de 1850 de notre ère (Parker et al. 2019). Cette méthode semble fonctionner sur des échantillons divers provenant de contextes différents. En outre, estimer le sexe d'individus juvéniles et revisiter les estimations du sexe d'individus adultes, nous a permis, bien que de manière limitée, de mieux comprendre la composition des cimetières à l'étude et de faire des constats quant à la mortalité liée au sexe. Même si la petite échelle de notre étude ne peut permettre de faire de la paléodémographie, en connaissant mieux le sexe des défunts et défuntés, nous pourrions tenter d'observer si au sein d'un échantillon de population, certains individus sont plus touchés par des problèmes de santé (ex. enfants, femmes) dans des études subséquentes. Préciser un profil de mortalité est une question clé en bioarchéologie, car cela permet l'élaboration d'hypothèses par rapport à l'état de santé de la population et à ses conditions de vie. Les bioarchéologues canadiens auraient donc avantage à emboîter le pas à leurs collègues à l'international.

2.6.2 Objectifs

En bref, notre objectif principal était d'appliquer la méthode de protéomique pour estimer le sexe d'individus issus de sépultures anonymes en contexte archéologique, et ainsi de tenter de mieux comprendre la composition démographique de cimetières historiques situés dans la vallée du Saint-Laurent. Précisément, nous voulions, sur un petit échantillon de populations :

1) Tester une méthode d'estimation du sexe d'après une protéine de l'émail des dents en mettant au point un protocole (Porto et al. 2011a ; Stewart et al. 2016 ; 2017 ; Parker et al. 2019) ;

En d'autres mots, notre question était la suivante : quel est le protocole le plus approprié pour analyser l'amélogénine (Porto et al. 2011a ; Stewart et al. 2016 ; 2017 ; Parker et al. 2019) ? Cette question préliminaire correspondait à une mise au point méthodologique en laboratoire. Nous avons testé différentes variables (ex. temps d'exposition à l'acide) du protocole d'extraction afin de déterminer la meilleure marche à suivre (collaboration avec l'Université du Québec à Trois-Rivières, T. Missihoun, co-directeur).

2) Comparer des méthodes d'estimation du sexe (protéomique *versus* ostéologique, paléogénétique) ;

En d'autres mots, nous voulions répondre à cette question : cette méthode de protéomique s'avère-t-elle comparable en termes de fiabilité avec la paléogénétique et est-elle même plus fiable que les méthodes ostéologiques ? Cette phase de travail correspondrait à la comparaison des résultats de protéomique avec les autres données disponibles pour le sexe de chaque individu, et a permis d'évaluer la précision des méthodes d'estimation du sexe entre elles en faisant le calcul de l'accord statistique.

3) Discuter de l'apport de données, rendu possible grâce à la protéomique, pour les individus juvéniles.

En d'autres mots, l'application d'une méthode de protéomique a tenté d'améliorer, voire de compléter les estimations ostéologiques (ou autres) du sexe d'individus archéologiques découverts sur divers sites historiques de la vallée du Saint-Laurent soit les cimetières de Notre-Dame (1691-1796), Pointe-aux-Trembles (1709-1843) et Sainte-Marie de Beauce (1748-1878) qui ont déjà été analysés dans le cadre de Mémoires de maîtrise (Gutierrez 2018 ; Vigeant 2012 ; B.-Hardy 2015 ; Crépin 2017). Principalement, nous voulions estimer le sexe des individus juvéniles afin de compléter les analyses effectuées sur les individus de ces cimetières. Ainsi, les interprétations bioarchéologiques ont pu être enrichies, étant donné que la mortalité ainsi que l'état de santé varient en fonction d'un très grand nombre de facteurs (âge, sexe, alimentation, pratiques culturelles, milieu urbain *versus* rural) (ex. Ribot, Morland, et Boisjoli 2010 ; Vigeant, Ribot, et

Hélie 2017 ; Humphrey, Bello, et Rousham 2012). Notre analyse se voulait donc complémentaire à celles déjà effectuées.

2.6.3 Résultats espérés

Grâce à notre projet de recherche axé surtout sur la méthodologie, nous espérons à long terme pouvoir améliorer l'estimation du sexe, et ainsi mieux comprendre la composition démographique d'échantillons de populations archéologiques. Le développement et l'utilisation de cette méthode dans le futur pourraient nous aider à mieux comprendre la mortalité des juvéniles ou nous permettre de faire une analyse lorsqu'il y a des lacunes au niveau des données ostéologiques.

2.7 Conclusion du contexte théorique

Maintenant que nous avons abordé les concepts de croissance et de minéralisation de l'émail dentaire, que nous avons compris comment fonctionne l'extraction des peptides par chromatographie d'interaction hydrophobe et que nous avons déterminé le protocole approprié pour transformer nos échantillons d'émail en peptides analysables, nous allons voir en détail le matériel à l'étude et rappeler les étapes de la méthodologie choisie pour notre étude.

Chapitre 3 — Matériel et méthodes

Présentons dès lors les échantillons à l'étude et les méthodes utilisées en mettant l'accent sur le protocole d'extraction des protéines.

3.1 Matériel : Échantillon dentaire

L'échantillon que nous avons sélectionné pour la présente étude consiste en 53 échantillons de peptides extraits de 52 molaires. Une des molaires a fait l'objet de deux abrasions et donc, elle a fourni deux échantillons de peptides. Les 52 molaires proviennent de 47 individus qui ont été inhumés dans trois cimetières euro-qubécois (tableau 4). Pour certains individus, plus d'une molaire a été prélevée, afin de tester différentes variables du protocole. Le premier cimetière, le cimetière Notre-Dame de Montréal (1691-1796), est un cimetière urbain (Arkéos 2008) et les deux autres, soit les cimetières de Pointe-aux-Trembles (1709-1843) et de Sainte-Marie de Beauce (1748-1878) sont des cimetières ruraux (Ethnoscop 2006 ; 2013) (figure 1). Ces trois collections font l'objet d'une entente avec les municipalités de Montréal et de Sainte-Marie et sont disponibles pour la recherche au Laboratoire de bioarchéologie humaine de l'Université de Montréal. Notre échantillon comprend autant d'individus adultes que de juvéniles (< 15 ans).

Tableau 4. Description du nombre d'individus total à analyser par cimetière.

Cimetières	Nombre d'individus
Cimetière de Notre-Dame	10
Cimetière de Pointe-aux-Trembles	15
Cimetière de Sainte-Marie de Beauce	22
Total	47

Pour les adultes, nous avons privilégié les individus qui avaient à la fois des molaires en bon état et des os (os coxaux et/ou crâne) permettant de faire des analyses ostéologiques comparatives. Par souci d'homogénéité au niveau de l'échantillon, les premières molaires (M1) étaient privilégiées, mais les autres molaires permanentes (M2 et M3) étaient acceptées si les M1 étaient absentes, mal conservées ou si elles présentaient des caries ou de l'usure dentaire excessive.

Les caries et l'usure dentaire sont des sources de contamination : c'est pourquoi les dents présentant ces caractéristiques ont été rejetées de l'échantillon (Mitsiadis et al. 2014; White et Folkens 2005).

Pour ce qui est des juvéniles, nous avons également privilégié les individus ayant à la fois des molaires et des os associés. Les M1 ou les germes dentaires des premières molaires ont été choisis parce que ce sont les dents les plus grosses et que, par conséquent, la quantité d'émail présente à la surface de ces dents est plus grande, ce qui est préférable pour l'analyse. Cependant, pour cinq individus, nous avons dû utiliser les deuxièmes molaires déciduales parce qu'elles étaient mieux conservées. Les dents déciduales conviennent pour l'analyse puisque le développement des organes sexuels *in utero* précède le développement des dents. Cela signifie que les chaînes de peptides qui codent pour les chromosomes sexuels dans l'amélogénine sont présentes *in utero* dès le début de la formation de l'émail dentaire (Nanci 2017; Mitsiadis et al. 2014).

Plus précisément, indépendamment de l'âge, nous avons sélectionné dix individus du cimetière de ND, 15 individus du cimetière de PAT et 22 individus de celui de SM (tableau 4). Une liste des individus par cimetière se trouve à l'annexe # 2.

Plus précisément, notre matériel contient 31 premières molaires permanentes (M1), 11 deuxièmes molaires permanentes (M2), cinq troisièmes molaires (M3) et cinq deuxièmes molaires déciduales (m2). Pour plus de détails, se référer au tableau 5.

Tableau 5. Description du nombre de molaires par type pour chaque cimetière.

Dents	Cimetière de Notre-Dame	Cimetière de Pointe-aux-Trembles	Cimetière de Sainte-Marie de Beauce	Total
M1	9	9	13	31
M2	2	3	6	11
M3	0	0	5	5
m2	0	3	2	5
Total	11	15	26	52

Finalement, notre échantillon comprend quatre individus adultes dont le sexe avait été confirmé par des analyses d'ADN avant le commencement de notre projet (Harding et al. 2020). Deux ont été inhumés au cimetière Notre-Dame (11D-S1 et 12D-S1), un à Pointe-aux-Trembles (7A9-S16) et un à Sainte-Marie (2B7). Pour le cimetière Notre-Dame, le sexe a aussi été établi grâce à des analyses d'ADN sur les dents pour cinq individus dont 11D-S1 analysé par Harding et collègues (2020) et avec l'os temporal pour un individu soit 12D-S1 également analysé par Harding et collègues (2020). Ces données de l'ADN proviennent de Diane Martin-Moya et collaborateurs (2023, communication personnelle) et ont servis à titre comparatif.

3.2 Méthodes d'estimation du sexe

3.2.1 Analyses ostéologiques

Cette partie sur les analyses ostéologiques comprend les détails des méthodes d'estimation de l'âge de tous les individus adultes et juvéniles des trois collections ainsi que ceux de l'estimation du sexe pour les individus adultes principalement. Une tentative d'estimation du sexe de certains juvéniles a été appliquée à partir d'une méthode (Schutkowski 1993) dont la fiabilité laisse à désirer (70-90 %). Lorsque nous ne pouvions pas effectuer les méthodes à cause de l'échantillonnage ou de l'accès restreint aux collections, nous avons également consulté les données des inventaires ostéologiques effectués lors d'études précédentes (Vigeant 2012 ; Gutierrez 2018 ; Ethnoscop 2006 ; Arkéos 2008 ; Ethnoscop 2013) qui utilisent des méthodes multiples pour estimer le sexe et l'âge. Le détail des méthodes utilisées à la fois pour l'estimation de l'âge et pour l'estimation du sexe se trouve à l'annexe # 3. Nous avons également mis en annexe un tableau détaillé des résultats de l'estimation de l'âge pour chaque individu (annexe # 4) ainsi qu'un tableau détaillé des résultats de l'estimation du sexe pour chaque individu (annexe # 5).

3.2.1.1 Estimation de l'âge

Comme les méthodes d'estimation de l'âge sont différentes pour les deux groupes d'âge, soit un âge de croissance pour les juvéniles et un âge d'usure pour les adultes, nous avons séparé cette section en deux. L'estimation de l'âge des juvéniles est d'ailleurs plus précise que celle des

adultes (White, Black, et Folkens 2012 ; White et Folkens 2005). Une liste du nombre d'individus par méthode utilisée se trouve au tableau 7 pour les juvéniles et au tableau 8 pour les adultes.

- Estimation de l'âge des juvéniles

Pour les juvéniles ou individus de moins de 15 ans, nous avons d'abord estimé l'âge à partir de deux méthodes sur les dents. L'estimation de l'âge à partir des dents est assez efficace puisqu'elle est moins affectée par les facteurs externes et les différences interpopulationnelles (Hoppa 1992 : 276). La première méthode, celle de AlQahtani et al. (2010) consiste à déterminer un stade de calcification (couronne ou racine) de chacune des dents présentes pour un individu et ensuite de comparer les stades au schéma d'éruption dentaire (figure 6, dans AlQahtani, Hector, et Liversidge 2010 : 485) pour obtenir un âge dentaire. Les données de référence proviennent de populations européennes du XVIII^e au XXI^e siècle. Pour comparer, nous avons également appliqué la méthode de l'éruption dentaire de Ubelaker (1979). La méthode d'AlQahtani et al. (2010) a l'avantage de pouvoir être appliquée avec une seule dent si on n'a pas de dentition complète. Nos résultats de l'estimation de l'âge avec la méthode d'AlQahtani et al. (2010) se trouvaient dans l'intervalle déterminé avec la méthode de Ubelaker (1979) pour tous les individus analysés avec ces méthodes (N = 18) (voir annexe # 6).

Ensuite, nous avons utilisé la méthode de croissance des os longs de Maresh (1970). Cette méthode est moins précise, puisque la croissance des os longs est sujette aux variations interpopulationnelles et aux facteurs externes (Hoppa 1992). Il s'agit d'une méthode métrique. Nous avons donc mesuré la longueur des os longs non fusionnés, donc sans les épiphyses, à l'aide d'un pied à coulisse numérique (Mastercraft 58-6800-4) et avons comparé les résultats avec ceux des tableaux de Maresh (1970) pour estimer un âge d'après la croissance. L'étude de Maresh a été faite sur des enfants américains du XX^e siècle. Puisque le sexe des juvéniles n'est pas précis, nous avons fusionné les données des deux sexes dans notre analyse. Par souci de comparaison entre les individus, nous avons privilégié la mesure des humérus (N=10) en prenant le droit lorsque possible (os le plus fréquent dans notre échantillon, mais pas nécessairement le plus fiable). Lorsque les humérus n'étaient pas disponibles, nous avons utilisé les membres inférieurs soit le fémur (N=6) et le tibia (N=2). Par contre, il ne faut pas oublier que l'âge estimé avec les mesures des membres

supérieurs peut différer légèrement de celui estimé avec les membres inférieurs (Maresh 1970). Pour un individu, nous avons utilisé la croissance de la clavicule (Scheuer et Black 1996). Le nombre des os mesurés pour les individus analysés est résumé dans le tableau 6 et les mesures sont détaillées dans l'annexe # 7.

Tableau 6. Os mesurés (marqué d'un X) pour chaque individu juvénile pour lesquels la méthode d'estimation de l'âge d'après des mesures sur les os longs était applicable (Maresh 1970 ; Scheuer et Black 1996).

Individus	Humérus	Fémur	Tibia	Clavicule
1C2	X			
2A2	X			
2B12		X		
2E2		X		
2E3		X		
2E4		X	X	
2E7	X	X		
7A2-S1	X			
7A2-S22	X			
7A2-S24	X			
7A2-S32		X	X	
7A9-S39	X			
7A9-S53	X			
12C-S2	X			X
12AA-S6	X			
Total	10	6	2	1

Ensuite, nous avons utilisé la méthode de Molleson et Cox (1993) qui consiste à mesurer la longueur et la largeur de l'ilium pour des enfants de trois ans et moins et de comparer les mesures à des données issues de populations anglaises des XVIII^e et XIX^e siècles. Cette méthode a été utilisée sur 14 individus et nous a permis de confirmer les âges estimés avec la calcification dentaire pour les plus jeunes individus de notre échantillon (N = 9).

Finalement, nous avons précisé nos données pour deux individus en observant le degré de fusion des épiphyses (Scheuer, Black, et Schaefer 2009). Nous avons ainsi pu établir une limite supérieure de 16 ans pour l'individu 12C-S2 n'ayant pas de fusion au niveau des épiphyses humérales et un âge entre 14 et 20 ans pour l'individu 12CC-S3 ayant une fusion partielle de l'épiphyse proximale du fémur.

Nous avons donc combiné toutes ces méthodes pour faire une moyenne de l'âge pour tous les juvéniles de notre échantillon (tableau 7). Comme l'âge de deux individus (7A9-S55 et 12W-S13) restait indéterminé après nos analyses, nous avons donc utilisé les résultats de l'âge des inventaires (Arkéos 2008 ; Ethnoscop 2013) archéologiques pour compléter nos données.

Tableau 7. Nombre d'individus juvéniles et les méthodes d'estimation de l'âge utilisées pour chaque cimetière.

Cimetière	Ubelaker (1979)	AlQahtani (2010)	Maresh (1970) ou Scheuer et Black (1996)	Molleson et Cox (1993)	Schaefer, Black et Scheuer (2009)	Inventaires (Arkéos 2008 ; Ethnoscop 2013)
Cimetière de Notre-Dame	1	1	2	2	2	1
Cimetière de Pointe-aux-Trembles	7	7	6	5	0	1
Cimetière de Sainte-Marie de Beauce	10	10	7	7	0	0
Total	18	18	15	14	2	2

- Estimation de l'âge des adultes

Nous avons considéré les adolescents et adolescentes comme étant des adultes puisque les méthodes qui pouvaient être appliquées sur leur squelette ou leurs dents sont plus ou moins les mêmes que pour les adultes (White et Folkens 2005). Nous avons donc inclus les individus de plus de 15 ans parmi les adultes en établissant une limite d'âge inférieure (> 17 ans) en analysant le stade de calcification de la M3 avec la méthode d'AlQahtani (2010). L'estimation de l'âge détaillée se trouve dans l'annexe # 4.

Nous avons commencé par analyser les traits en relation avec l'âge sur les os coxaux des individus adultes (Schmitt 2005 ; Brooks et Suchey 1990). Ce sont les méthodes les plus fiables pour les adultes. La méthode de Schmitt (2005) consiste à observer quatre traits visuels de vieillissement de la surface auriculaire et à leur attribuer un score à partir d'une population de référence mondiale datant du XVIII^e au XX^e siècle (Schmitt 2005).

La méthode de Brooks et Suchey (1990) qui établit un âge en observant la morphologie de la symphyse pubienne et en lui donnant un score a aussi été utilisée. Cette méthode se base sur une population de référence composée d'individus américains du XX^e siècle. La faible conservation de la symphyse pubienne en contexte archéologique nous a permis d'utiliser la méthode sur seulement cinq individus.

Après avoir établi une limite d'âge inférieure (ex. > 17 ans) en analysant le stade de calcification de la troisième molaire avec la méthode d'AlQahtani (2010) pour quelques individus dont la M3 était encore en formation (N = 4), nous avons utilisé la méthode de l'usure dentaire de Lovejoy (1985). La méthode consiste à donner un stade d'usure en observant l'apparition de dentine suivant la dégradation de l'émail sur la dentition. Cette méthode est moins précise puisqu'elle est influencée par des facteurs externes comme l'alimentation. De plus, elle est spécifique aux populations et à leur mode de vie. L'étude de Lovejoy (1985) a utilisé une population de référence autochtone préhistorique et non européenne comme la population supposée de notre échantillon. Nous l'avons quand même utilisée pour nous donner une idée de l'âge des individus, mais avec prudence.

Finalement, la méthode de fusion des épiphyses des vertèbres (Albert et Maples 1995) nous a permis de déterminer que deux individus, pour lesquels aucun autre os n'était accessible, avaient plus de 30 ans puisque la fusion des vertèbres était complète. Cette méthode se base sur des données américaines du XX^e siècle.

Nous avons donc combiné toutes ces méthodes pour faire une moyenne de l'âge pour tous les adultes de notre échantillon (tableau 8). L'âge de deux individus (2G6 et 11D-S1) restait indéterminé après nos analyses, nous avons donc utilisé les résultats de l'âge des inventaires (Vigeant 2012 ; Ethnoscop 2006 ; Arkéos 2008) archéologiques pour compléter nos données. Ils ont utilisé des méthodes alternatives ou, lorsque les méthodes ci-haut étaient applicables lors de l'inventaire, elles pouvaient ne plus l'être dans le cadre de cette étude à cause de l'échantillonnage ou de l'accès aux collections.

Tableau 8. Nombre d'individus adultes par méthodes d'estimation de l'âge utilisées pour chaque cimetière.

Cimetière	Schmitt (2005)	Brooks et Suchey (1990)	AlQahtani (2010)	Lovejoy (1985)	Albert et Maples (1995)	Inventaires (Vigeant 2012 ; Ethnoscop 2006 ; Arkéos 2008)
Cimetière de Notre-Dame	2	0	0	5	1	1
Cimetière de Pointe-aux-Trembles	6	4	2	3	1	0
Cimetière de Sainte-Marie de Beauce	9	1	2	7	0	1
Total	17	5	4	15	2	2

3.2.1.2 Estimation du sexe

Pour ce qui est de l'estimation du sexe, nous nous sommes concentrés sur les individus adultes puisque le sous-développement des caractéristiques sexuelles chez les juvéniles ne permet pas une estimation précise du sexe (White, Black, et Folkens 2012 ; White et Folkens 2005). Une liste du nombre d'individus par méthode utilisée se trouve au tableau 9.

- Estimation du sexe des adultes

Toutes collections confondues, la plupart des individus adultes (21/24) ont soit un os coxal ou un crâne, soit les deux ou encore des fragments de ces os disponibles pour l'analyse du sexe. Nous avons donc pu appliquer des méthodes visuelles et métriques sur la majorité des squelettes adultes de l'échantillon. Nous avons donc confronté plusieurs méthodes d'estimation du sexe pour chaque individu et sommes arrivés à une conclusion en prenant en compte le nombre de méthodes qui tendent vers un même sexe et la fiabilité de chaque méthode. Nous avons conclu que l'individu était soit de sexe masculin (M), de sexe féminin (F) ou qu'il avait une tendance vers un des deux sexes (TM ou TF). Si aucune tendance n'était visible, le sexe restait indéterminé (ind.). Les résultats détaillés se trouvent dans l'annexe # 5.

La méthode la plus fiable (98-99 %) est la diagnose sexuelle probabiliste ou DSP (Murail et al. 2005) basée sur une collection de référence mondiale du XVIII^e au XX^e siècle qui consiste à prendre quatre ou cinq mesures sur l'os coxal. On obtient ainsi une probabilité que l'individu soit un homme ou une femme. Une probabilité supérieure à 95 % nous donne une estimation du sexe qui est considérée comme déterminante. Nous avons conservé les probabilités supérieures à 90 % pour la comparaison avec d'autres méthodes. La méthode avait moins de poids par rapport aux autres si la probabilité n'était pas assez élevée. Le désavantage de cette méthode reste la conservation des os en contexte archéologique qui ne permettait pas de prendre les mesures sur tous les individus.

Nous avons ensuite appliqué des méthodes visuelles sur les os coxaux (Phenice 1969 ; Buikstra et Ubelaker 1994 ; Bruzek 2002). Nous avons donc donné un score de 1 à 5 (1 étant féminin et 5 étant masculin) à l'ouverture de la grande échancrure ischiatique, puis nous avons analysé huit autres traits selon s'ils étaient féminins ou masculins. Le sexe dominant pour le plus grand nombre de traits devenait notre résultat. Nous avons ajouté à l'analyse visuelle du bassin l'analyse visuelle du sacrum lorsqu'il était disponible (N = 7). Cette méthode (Byers 2009) analyse le rapport entre la longueur et la largeur du sacrum, sa courbure et la largeur de ses ailes. La fiabilité des méthodes sur le bassin réside dans le rôle de la morphologie des os du bassin dans la parturition. La méthode de Bruzek (2002) a une fiabilité entre 93-98 % et se base sur des individus français et portugais des XIX^e et XX^e siècles. La méthode de Buikstra et Ubelaker (1994) se base sur des individus américains et anglais des XVIII^e et XIX^e siècles. Une comparaison détaillée des méthodes d'estimation du sexe selon plusieurs méthodes morphologiques et morphométriques sur les os de la ceinture pelvienne se trouve à l'annexe # 8.

Finalement, nous avons appliqué la méthode visuelle du crâne (Buikstra et Ubelaker 1994) qui consiste à donner des scores de 1 à 5 (1 étant féminin et 5 étant masculin) à quatre traits morphologiques sur le crâne et un trait sur la mandibule. L'estimation du sexe avec les os du crâne est moins fiable (82-90 %) que les méthodes qui utilisent le bassin, car les traits sur le crâne sont plus sujets aux facteurs externes et à la variation interpopulationnelle (White, Black, et Folkens 2012 ; White et Folkens 2005).

Nous avons donc combiné toutes ces méthodes pour obtenir un sexe global ou dominant pour tous les adultes de notre échantillon (tableau 9). Comme le sexe de deux individus (11D-S1 et 12CC-S3) restait indéterminé après nos analyses, nous avons utilisé les données du sexe des inventaires (Vigeant 2012 ; Gutierrez 2018 ; Arkéos 2008) archéologiques estimées selon des méthodes variées pour compléter nos données.

Tableau 9. Description du nombre d'individus adultes par méthode d'estimation du sexe pour chaque cimetière.

Cimetières	Murail et al. (2005)	Phenice (1969)	Coxal (Buikstra et Ubelaker 1994)	Bruzek (2002)	Byers (2009)	Crâne (Buikstra et Ubelaker 1994)	Inventaires (Vigeant 2012 ; Arkéos 2008)
Cimetière de Notre-Dame	1	0	2	2	1	6	2
Cimetière de Pointe-aux-Trembles	6	4	6	6	2	7	0
Cimetière de Sainte-Marie de Beauce	8	1	10	10	4	10	0
Total	15	5	18	18	7	23	2

- Estimation du sexe des juvéniles

Bien que les méthodes d'estimation du sexe soient peu fiables chez les juvéniles à cause du développement des traits sexuellement dimorphiques à la puberté, il existe quelques méthodes qui tentent d'établir des traits sexuellement dimorphiques visibles sur le squelette même avant la puberté (Cardoso et Saunders 2008 ; Schutkowski 1993). Certaines méthodes utilisent plutôt des traits métriques sur l'ilium (Vlak, Roksandic, et Schillaci 2008) ou encore sur les dents (Cardoso 2008). Nous n'avons pas utilisé les méthodes métriques parce que les mesures sur l'ilium sont corrélées à l'âge et à la croissance plutôt qu'au sexe (Vlak, Roksandic, et Schillaci 2008) et parce que les mesures sur les dents proviennent de données adultes qui sont appliquées aux juvéniles (Cardoso 2008). De plus, la dent la plus dimorphique est la canine et nous n'avons pas beaucoup de canines permanentes disponibles pour les juvéniles de notre échantillon.

Nous avons donc utilisé la méthode de Schutkowski (1993) qui reprend quatre traits visuels de l'ilium analysés par Phenice (1969) sur les os coxaux des adultes. Nous avons effectué l'estimation du sexe en utilisant cette méthode sur 15 individus afin de pouvoir comparer les résultats avec ceux de la protéomique. Nous remarquons que sur les 15 iliums analysés dans notre échantillon, 11 ont été classés comme des filles, trois comme des garçons et un comme indéterminé (voir tableau 10).

Tableau 10. *Nombre de filles et de garçons estimés d'après la méthode d'estimation du sexe des juvéniles de Schutkowski (1993) pour chaque cimetière.*

Cimetières	Nombre de filles	Nombre de garçons	Nombre d'indéterminés	Total
Cimetière de Notre-Dame	1	1	0	2
Cimetière de Pointe-aux-Trembles	5	0	0	5
Cimetière de Sainte-Marie de Beauce	5	2	1	8
Total	11	3	1	15

3.2.1.3 Résultats d'estimation du sexe par les méthodes ostéologiques et remarques

Enfin, notre échantillon nous permet de faire plusieurs observations représentées à la figure 16. L'estimation de l'âge nous a permis de diviser notre échantillon en plusieurs groupes. D'abord un groupe de juvéniles comprenant 23 individus et un groupe d'adultes comprenant 24 individus. Pour les juvéniles, nous avons d'abord les très jeunes enfants âgés de la naissance à 2,5 ans (N = 11), les jeunes enfants de 2,5-5,5 ans (N = 7) et le groupe des enfants plus âgés ayant entre 5,5 et 12 ans (N = 5). Pour les adultes, nous avons les adolescents de 15-20 ans (N = 5), les jeunes adultes âgés de 20 à 40 ans (N = 13) et les adultes âgés ayant plus de 40 ans (N = 6) (voir annexe # 9).

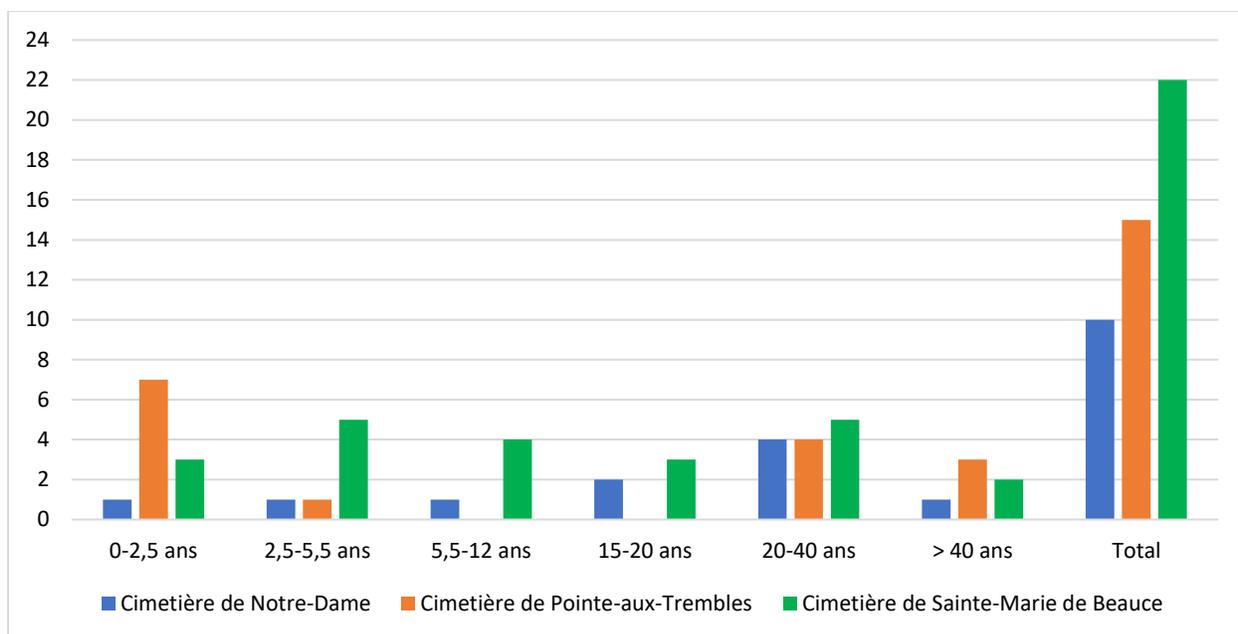


Figure 16. Graphique du nombre d'individus par groupe d'âge pour les trois cimetières à l'étude.

Le tableau 11 résume le sexe estimé d'après les méthodes ostéologiques pour tous les individus des trois cimetières à l'étude.

Tableau 11. Sexe estimé avec les méthodes ostéologiques traditionnelles pour le cimetière de Notre-Dame de Montréal ($N = 10$), pour le cimetière de Pointe-aux-Trembles ($N = 15$) et le cimetière de Sainte-Marie de Beauce ($N = 22$).

Individus	Âge moyen estimé	Sexe estimé, ostéologie
Notre-Dame		
4G-S1	16-49 ans	F
11D-S1	> 40 ans	M
12C-S2	9-15 ans	TM
12AA-S6	2,5 ans	F
12CC-S3	14-20 ans	F
12D-S1	20-24 ans	TM
12EE-S5	16-39 ans	TF
12W-S13	4,5 ans	ind.
4M -1	30-35 ans	M
12Z-S1	16-24 ans	M
Pointe-aux-Trembles		
7A11-S61	16-49 ans	F
7A2-S1	1,5-2 ans	F

Individus	Âge moyen estimé	Sexe estimé, ostéologie
7A2-S5	>40 ans	TM
7A2-S7	20-49 ans	TM
7A2-S22	1,5 an	F
7A2-S24	1,5 an	F
7A2-S32	1,5-2 ans	F
7A9-S13	16-29 ans	F
7A9-S16	>30 ans	TM
7A9-S18	1,5 an	ind.
7A9-S27	>40 ans	F
7A9-S38	16-29 ans	F
7A9-S39	4-6 ans	F
7A9-S53	1,5-2,5 ans	ind.
7A9-S55	1-3 ans	ind.
Sainte-Marie		
1C2	7-8 ans	F
1G2	1,5 an	ind.
1G5	16-20 ans	F
2A1	5,5 ans	F
2A13	10-11 ans	ind.
2A15	9 ans	F
2A2	6 ans	TM
2B12	1,5-2 ans	ind.
2B14	16-39 ans	F
2B15	30-35 ans	M
2B5	30-59 ans	M
2B7	20-49 ans	TM
2E13	17 ans	F
2E2	6 mois	TM
2E3	2-3 ans	F
2E4	2-3 ans	F
2E7	2,5 ans	F
2E8	17 ans	M
2G12	30-59 ans	F
2G4	16-39 ans	M
2G5	5,5 ans	F
2G6	20-35 ans	F

Pour ce qui est de l'estimation du sexe, indépendamment des groupes d'âge, 53 % de l'échantillon est composé d'individus de sexe féminin soit 12 femmes et 13 filles (N = 25), le tiers est composé d'individus masculins soit 12 hommes et trois garçons (N = 15) et le sexe du reste de l'échantillon n'a pas pu être identifié (N = 7). Si on ne prend en compte que les résultats des adultes, nous avons un total de 12 femmes et de 12 hommes. On constate que, pour les adultes, il y a autant d'hommes que de femmes pour le cimetière de Sainte-Marie et presque autant d'individus des deux sexes pour le cimetière de Pointe-aux-Trembles et de Notre-Dame. Pour les juvéniles, on constate qu'il y a une majorité de filles pour les cimetières de Sainte-Marie et de Pointe-aux-Trembles et autant de filles, de garçons que d'individus de sexe indéterminé pour le cimetière de Notre-Dame. Les résultats détaillés du nombre d'individus de chaque sexe par groupe d'âge pour chacun des trois cimetières sont présentés sous la forme de trois graphiques : figures 17, 18 et 19. Les données brutes ayant servi à faire ces graphiques se trouvent à l'annexe # 10.

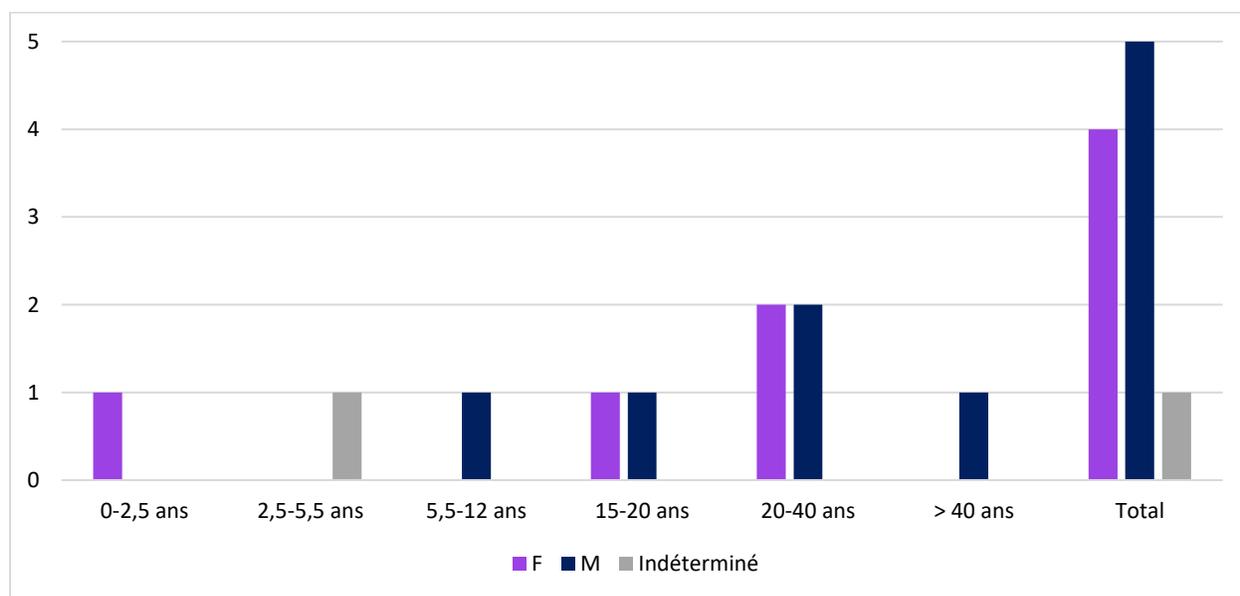


Figure 17. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Notre-Dame.

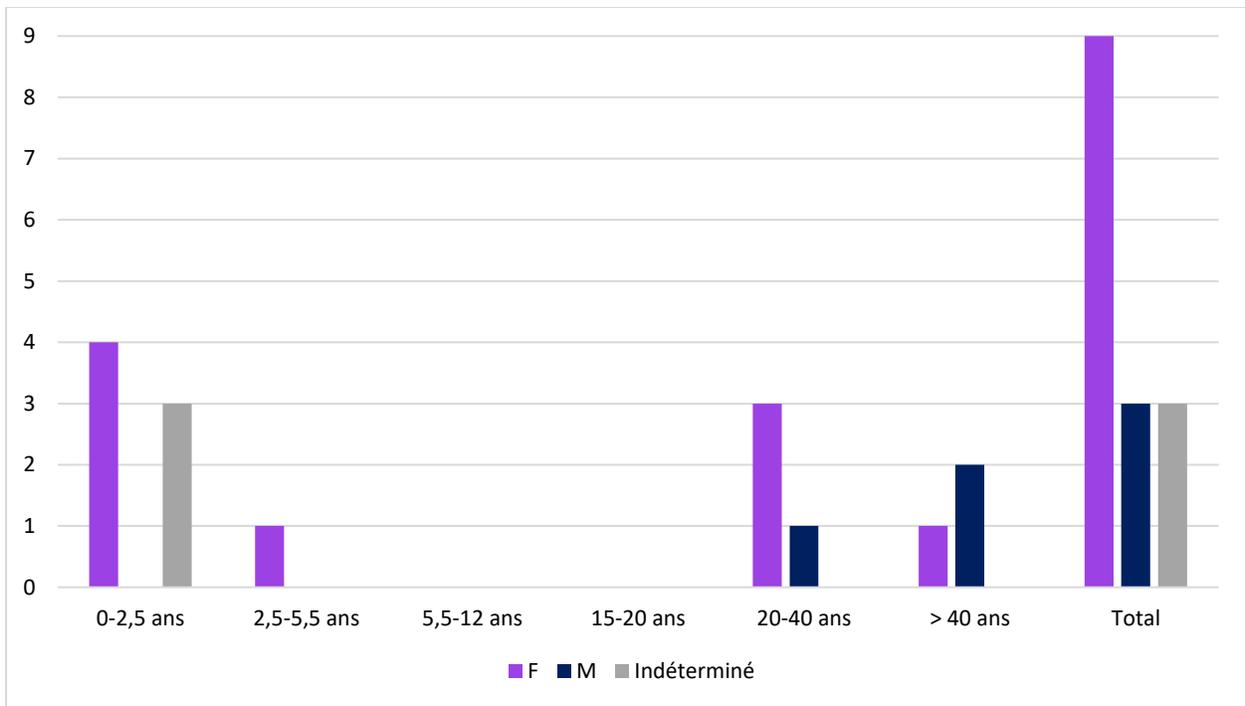


Figure 18. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Pointe-aux-Trembles.

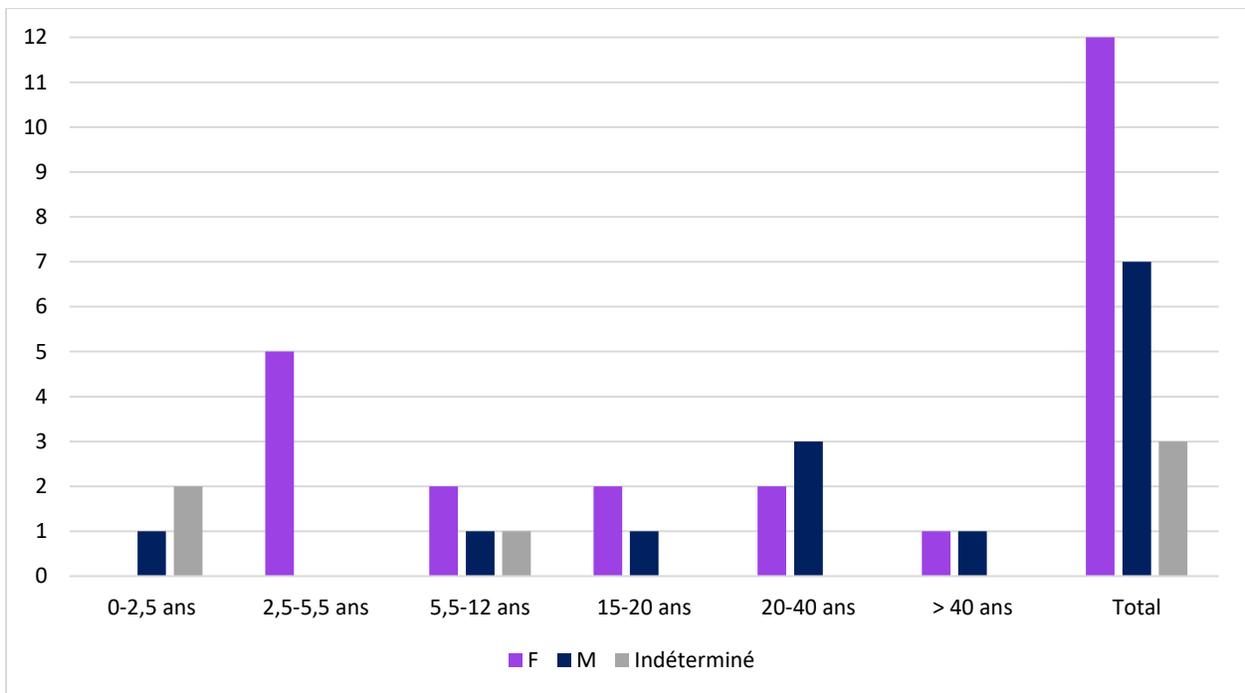


Figure 19. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Sainte-Marie de Beauce.

Finalement, il est important de noter que notre échantillon pour chaque cimetière n'est pas représentatif du cimetière au complet puisque le nombre d'individus est plutôt petit (10 pour ND, 15 pour PAT et 22 pour SM). Une interprétation paléodémographique complète et représentative n'est donc pas possible avec notre échantillon. C'est pourquoi notre projet de recherche visait plutôt à compléter les résultats de nature démographique grâce aux nouvelles estimations du sexe établies avec la protéomique. De la même manière, ces trois cimetières ne représentent pas la totalité des cimetières catholiques du Québec de la même période. Aussi, nous avons choisi notre échantillon selon l'accessibilité de certains matériaux ostéologiques. Ainsi, notre échantillon peut ne pas représenter la distribution du sexe et de l'âge de la population. Puis, nous constatons qu'il y aurait aussi un certain biais dans les comparaisons entre les résultats du milieu rural et du milieu urbain puisque l'échantillon du cimetière urbain de Notre-Dame est petit ($N = 10$) comparé à celui des cimetières ruraux ($N = 37$).

3.2.2 Analyses protéomiques

En amont, la préparation des échantillons de peptides s'est effectuée dans les laboratoires du Département de chimie, biochimie et physique de l'Université du Québec à Trois-Rivières (UQTR). Par la suite, les analyses biochimiques ont été réalisées au Centre d'analyse protéomique et chéomogénomique avancée (CAPCA) de l'Institut de recherche en immunologie et en cancérologie de l'Université de Montréal (IRIC).

3.2.2.1 Préparation des échantillons

La préparation des échantillons s'est faite en plusieurs étapes en commençant par la numérisation de l'échantillon, puis en procédant au nettoyage des dents pour finalement transformer chimiquement les molaires en peptides analysables au spectromètre de masse d'après un protocole inspiré de celui mis au point par Stewart et collègues (2017).

- Prise de photographies en vue d'une numérisation de l'échantillon

Puisque le processus d'extraction des protéines que nous utilisons est partiellement destructeur, nous avons numérisé chaque dent de l'échantillon avant de procéder à leur

transformation. Cela a pour but de conserver les dents pour de futures observations. Nous avons donc photographié toutes les faces de chaque dent ainsi que les racines le cas échéant afin de construire un modèle 3D à l'échelle de chaque dent (qui pourra être observé, mesuré et analysé par de futurs étudiants et étudiantes et chercheurs et chercheuses).

Pour ce faire, nous avons utilisé le matériel de photographie mis à notre disposition par le laboratoire de photographie « AnthroLab3D » du Département d'anthropologie de l'Université de Montréal (Jean-Baptiste Le Moine, 2020, communication personnelle). Nous avons placé la dent sur une plateforme rotative automatique *VELLO MPH100 Freewave Orbit* comme dans le montage de la figure 20. Les paramètres utilisés sur l'appareil photographique sont présentés au tableau de l'annexe # 11. La plateforme rotative tournait sur son axe par incréments de 15 degrés pour permettre de photographier l'ensemble de la dent en une série de 24 photographies pour trois positions différentes. La dent était placée verticalement dans trois angles différents pour créer le nuage de points qui servira à composer le modèle 3D. Les descriptions des positions de la dent pour les séries de photographies sont disponibles dans le tableau de l'annexe # 11 accompagnées de photographies de la position initiale de chaque série.



Figure 20. *Laboratoire photographique pour la numérisation de l'échantillon dentaire à l'Anthropolab3D (photo : Jade Parent 2020).*

3.2.2.2 Description du protocole d'extraction des protéines

La méthode pour extraire les peptides dérivés de l'amélogénine était minimalement destructrice et a consisté en une abrasion à l'acide de l'émail d'une molaire pour chacun des individus des cimetières de Notre-Dame, Pointe-aux-Trembles et Sainte-Marie (Stewart et al. 2016 ; 2017). Le protocole par étapes se trouve à l'annexe # 12. La figure 21 présente les étapes principales de la transformation de l'émail dentaire en peptides analysables soit la déminéralisation de l'émail, la filtration des peptides et l'élution de l'échantillon.

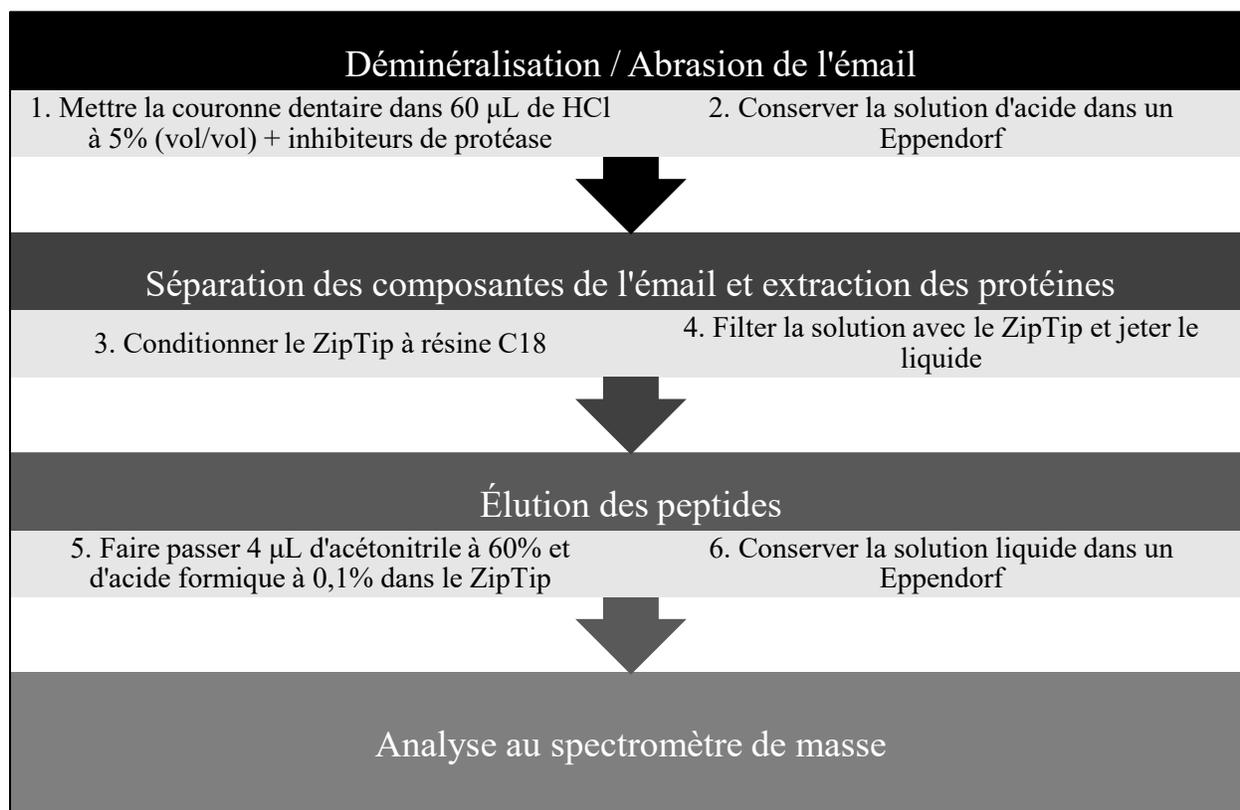


Figure 21. Schéma présentant les étapes principales de la transformation de l'émail dentaire en peptides analysables (élaboré par Jade Parent 2023 à partir du protocole modifié de Stewart et al. 2016, 2017).

Avant de procéder à l'extraction, nous avons gratté la surface de chaque dent avec de l'eau, une brosse à dents et un pic dentaire, afin d'éliminer les contaminants (sédiments, tartre, etc.), possiblement présents à la surface de la dent. Le tartre étant lui-même composé de protéines, de bactéries et de restes alimentaires minéralisés, il est important de l'enlever pour ne pas confondre ses composantes moléculaires avec celles que nous voulions analyser. Ensuite, pour bien nettoyer la surface des dents, nous avons traité l'émail en mettant la dent dans une solution de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Pour la déminéralisation des protéines, nous avons d'abord procédé à l'abrasion de l'émail en mettant la face de la couronne dentaire la plus intacte directement en contact pendant une heure avec un ménisque convexe de 60 µL de HCl à 5 % (vol/vol) contenant un cocktail d'inhibiteurs de protéase pour empêcher la destruction des protéines selon le montage suivant (figure 22). Après avoir retiré la dent, nous avons conservé la solution d'acide dans un Eppendorf pour l'extraction des peptides. La surface de la couronne mise en contact avec l'acide dépendait de la dent en

question. Pour les germes dentaires, nous mettons la face occlusale de manière à envelopper le germe dentaire avec l'acide et d'avoir le maximum de surface possible en contact avec la solution. Sinon, nous privilégions la face buccale ou linguale puisqu'elle est moins affectée par les caries et le tartre (White et Folkens 2005). Il est important que la face choisie ne comporte ni pathologie ni effet taphonomique (fissures, cassures, etc.), afin d'éviter la contamination au niveau moléculaire (White et Folkens 2005 ; Mitsiadis et al. 2014). Il faut aussi éviter que la racine et la dentine soient en contact avec l'acide puisque les protéines de collagène présentes en plus grande quantité dans les racines et la dentine que dans l'émail pourraient potentiellement masquer le signal de protéines plus petites (Nielsen-Marsh et al. 2009). C'est pourquoi la face occlusale a finalement été choisie pour la plupart des dents.

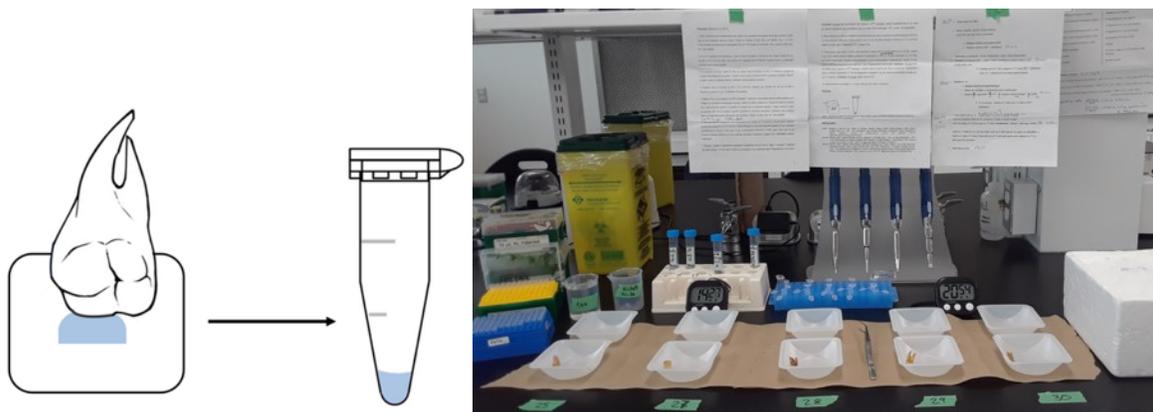


Figure 22. Montage de l'étape 5 de l'abrasion de l'émail (modifié à partir de l'image du montage de Stewart et al. 2016). En bleu, la solution d'émail déminéralisé contenant les peptides. (Photo : Jade Parent 2021).

Pour procéder à la séparation des composantes de l'émail et à l'extraction des peptides, nous avons utilisé un *ZipTip* à résine C18 (figure 23), c'est-à-dire un embout pour micropipette contenant une colonne de séparation (un filtre). Après avoir conditionné le *ZipTip*, nous avons passé dix fois l'entièreté de la solution d'acide mise de côté précédemment dans la colonne et avons rejeté la solution. Les peptides que nous désirions avoir sont restés emprisonnés dans la colonne.



Figure 23. *ZipTip à résine C18 ayant servi à la filtration des peptides d'un échantillon liquide (photo : Jade Parent 2021).*

Finalement, pour faire l'élution des peptides ou les libérer de la colonne du *ZipTip*, nous avons fait passer 4 μL d'un éluant (*elution buffer*) composé d'acétonitrile à 60 % et d'acide formique à 0,1 % dans le *ZipTip* dix fois. Après le dixième passage, nous avons conservé l'échantillon dans un nouvel Eppendorf. C'est cet Eppendorf contenant 4 μL de solution de peptides élués qui est allé à l'analyse (figure 24).



Figure 24. *Eppendorfs contenant les peptides élués en solution liquide pour l'analyse au spectromètre de masse (photo : Jade Parent 2021).*

3.2.2.3 Mise au point méthodologique préliminaire pour le protocole d'extraction

Nous avons d'abord testé le protocole précédent en contrôlant différentes variables soit le temps d'exposition à l'acide, la filtration de l'échantillon avec un *ZipTip* à résine C18 et le choix de la surface d'émail exposé à l'acide (tableau 12). Nous avons commencé par mettre la dent en contact avec l'acide chlorhydrique pendant cinq minutes avec trois dents dont une en croissance

(Protocole A : échantillons #1, 2 et 3) pour savoir si on pouvait bel et bien détecter des protéines de façon générale au spectromètre de masse. Puis, nous avons testé le protocole sans l'utilisation du *ZipTip* avec une dent pour voir s'il y avait une différence en matière de détection des protéines (Protocole B : échantillon #7). Nous avons également fait l'abrasion avec une dent, suivi de l'utilisation du *ZipTip* (Protocole C : échantillon #5) et avec une dent sans l'utilisation du *ZipTip* (Protocole D : échantillon #6), mais en mettant la dent en contact avec l'acide chlorhydrique pendant une heure au lieu de cinq minutes. Finalement, nous avons utilisé un fragment d'émail brisé (environ 3 g) en contact avec la solution d'acide pendant une heure, avec et sans le passage dans la colonne de séparation du *ZipTip* pour tester la méthode (Protocole C : échantillon #4 et Protocole D : échantillon #8 respectivement). Ces informations sont résumées dans le tableau 12. Les dents utilisées pour la mise au point du protocole sont incluses dans le décompte des 52 molaires soumises à l'analyse.

Tableau 12. Description de l'échantillon testé lors de la mise au point méthodologique du protocole

ID protocole	Temps de l'abrasion	Utilisation du <i>ZipTip</i> C18	# d'échantillon	Individus	Dents
A	5 min	Oui	1	2B7	M ₁ D
			2	2A1	M ₂ G
			3	11D-S1	M ¹ G
B	5 min	Non	7	2E8	M ³ D
C	1 h	Oui	4	2B7	Fragment indéterminé
			5	4M1	M ² G
D	1 h	Non	6	12CC-S3	M ² D
			8	2B7	Fragment indéterminé

Pour chaque protocole du tableau 12, nous avons ensuite tenté de détecter s'il y avait présence de l'amélogénine. Pour les échantillons ayant été traités selon les protocoles A et B (échantillons #1, 2, 3 et 7), soit avec une abrasion de 5 minutes, nous avons demandé au spectromètre de masse quelles protéines ont été détectées afin de voir si l'amélogénine, que nous cherchions, était présente dans ces échantillons. Nous avons récupéré : du collagène, de l'ostéopontine, de l'albumine et de la kératine dans un échantillon (échantillon #1); seulement du collagène dans un autre (échantillon #3); et une protéine inconnue ayant un signal de 70 kDa dans le dernier échantillon qui correspond à la dent en croissance (échantillon #2). Aucun signal sous

33 kDa n'a été détecté. L'amélogénine, que nous cherchions, a un signal de 20 kDa (Wasinger et al. 2019). Puis, également avec une abrasion de 5 minutes, mais sans l'utilisation du ZipTip, nous avons recueilli du collagène, de la kératine, de la hornérine et finalement de l'améloblastine (échantillon #7). Cette dernière protéine joue un rôle conjoint à l'amélogénine dans la croissance de l'émail dentaire. Encore une fois, aucune protéine en dessous de 33 kDa n'a été détectée ni aucune trace de l'amélogénine. Le tableau 13 résume ces informations.

Tableau 13. Détection de protéines de l'émail dentaire avec une abrasion à l'acide de l'émail pendant cinq minutes.

ID protocole	Temps de l'abrasion	Utilisation du ZipTip C18	# d'échantillon	Individus	Protéines identifiées	Présence d'amélogénine
A	5 min	Oui	1	2B7	<ul style="list-style-type: none"> • Collagène (I et II) • Ostéopontine • Albumine • Kératine 	Non
			2	2A1	<ul style="list-style-type: none"> • Protéine inconnue (70 kDa) 	Non
			3	11D-S1	<ul style="list-style-type: none"> • Collagène (I et II) 	Non
B	5 min	Non	7	2E8	<ul style="list-style-type: none"> • Collagène (I et II) • Kératine • Hornérine • Améloblastine 	Non

En ce qui concerne les échantillons mis en contact avec la solution de HCl pendant 1 h (Protocoles C et D : échantillons #4, 5, 6 et 8), nous avons opté pour une analyse ciblant directement les quatre peptides de l'amélogénine suivants : SIRPPYSY (540,2796 m/z), SM_(ox)IRPPY (440,2233 m/z), SYEVLTPK (525,2975 m/z) et YEVLTPKQY (656,3528 m/z), ainsi que le peptide de l'énaméline suivant : PYFGYFGYH (575,7533 m/z) (tableau 14). Les échantillons de fragments d'émail avec (Protocole C : échantillon #4) et sans l'utilisation du ZipTip (Protocole D : échantillon #8) ont révélé la présence de tous les peptides ciblés, sauf pour YEVLTPKQY (656,3528 m/z). Il en va de même pour la couronne complète mise en contact

avec l'acide suivi des étapes avec le *ZipTip* (Protocole C : échantillon #5). Aucun peptide spécifique à l'amélogénine n'a été détecté avec la couronne complète sans l'utilisation du *ZipTip* (Protocole D : échantillon #6), mais le peptide PYFGYFGYH (575,7533 m/z) spécifique à l'énaméline était présent. Avec le protocole D, bien que des peptides de l'amélogénine furent détectés dans l'échantillon #8, aucun ne fut détecté dans l'échantillon #6 ce qui suggère que le protocole D n'est pas adéquat pour détecter de façon fiable cette protéine. Ainsi, une exposition plus longue à l'acide chlorhydrique avec l'utilisation du *ZipTip* C18 semble donc appropriée pour révéler la présence de peptides spécifiques à l'amélogénine. Puisque le temps et le budget étaient limités, si les peptides nécessaires à l'estimation du sexe étaient détectés lors du test, les résultats du test étaient conservés pour l'analyse au lieu de reproduire le protocole une deuxième fois sur un même individu. C'était le cas pour les tests sur 4M1 et 2B7.

Tableau 14. Détection de chaînes de peptides ciblées de l'amélogénine et de l'énaméline dans l'email dentaire avec une abrasion à l'acide de l'email pendant une heure.

ID protocole	Temps de l'abrasion	Utilisation du ZipTip C18	# d'échantillon	Individus	Chaînes de peptides identifiées
C	1 h	Oui	4	2B7	<ul style="list-style-type: none"> • PYFGYFGYH (575,7533 m/z) • SIRPPYPSY (540,2796 m/z) • SM_(ox)IRPPY (440,2233 m/z) • SYEVLTPK (525,2975 m/z)
			5	4M1	<ul style="list-style-type: none"> • PYFGYFGYH (575,7533 m/z) • SIRPPYPSY (540,2796 m/z) • SM_(ox)IRPPY (440,2233 m/z) • SYEVLTPK (525,2975 m/z)

ID protocole	Temps de l'abrasion	Utilisation du ZipTip C18	# d'échantillon	Individus	Chaînes de peptides identifiées
D	1 h	Non	6	12CC-S3	<ul style="list-style-type: none"> • PYFGYFGYH (575,7533 m/z)
			8	2B7	<ul style="list-style-type: none"> • PYFGYFGYH (575,7533 m/z) • SIRPPYPSY (540,2796 m/z) • SM_(ox)IRPPY (440,2233 m/z) • SYEVLTPK (525,2975 m/z)

Pour ce qui est du reste de l'échantillon, nous avons utilisé le protocole qui comprend une abrasion à l'acide d'une couronne complète pendant 1 heure suivi d'une filtration avec le *ZipTip*.

3.3 Traitement des données

Tel que nous venons de le voir, la méthode pour extraire des peptides dérivés de l'amélogénine est minimalement destructrice et consiste en une abrasion à l'acide de l'émail d'une molaire pour chacun des individus de notre échantillon. Les échantillons extraits par chromatographie liquide ont ensuite été analysés au spectromètre de masse (LC-MS/MS) (Stewart *et al.* 2016, 2017 ; Porto *et al.* 2011a, 2011b). En résumé, les résultats nous indiquaient les différentes chaînes de peptides de l'amélogénine détectées d'AMELX et d'AMELY chacune associées au chromosome X ou Y (Stewart *et al.* 2016, 2017 ; Porto *et al.* 2011a, 2011b). En ciblant un certain nombre de chaînes de peptides d'AMELX et d'AMELY, nous pouvions estimer le sexe selon la présence ou l'absence de certaines chaînes. La présence d'une chaîne d'AMELY indique que l'individu était de sexe masculin, alors que l'absence de chaînes d'AMELY (présence d'AMELX seul) indique, quant à elle, que nous avons probablement un individu féminin (Stewart *et al.* 2016, 2017 ; Porto *et al.* 2011a, 2011b).

3.3.1 L'analyse des résultats de l'estimation du sexe selon la méthode de protéomique

3.3.1.1 Méthodologie au spectromètre de masse : de la transformation de l'échantillon aux analyses graphiques



Figure 25. Spectromètre de masse Q-Exactive HF de Thermo Fisher (image : <https://www.medicalexpofr.com/prod/thermo-scientific/product-78678-671309.html>)

Après avoir transformé l'émail minéralisé en échantillon liquide contenant les peptides analysables, nous avons envoyé les échantillons à l'IRIC pour l'analyse au spectromètre de masse. Les échantillons ont été analysés avec un spectromètre de masse Q-Exactive HF de Thermo Fisher (figure 25) selon le processus décrit au deuxième chapitre (Chapitre 2 — L'application de la protéomique pour l'estimation du sexe : 39). Les résultats des analyses au spectromètre de masse nous étaient fournis déjà traités à l'aide du logiciel Scaffold en utilisant la base de données du protéome humain téléchargée du site Uniprot comme modèle théorique pour détecter les peptides présents dans nos échantillons. C'est-à-dire que, pour chaque échantillon, l'IRIC nous a fourni une liste de tous les peptides qui ont été détectés parmi ceux ciblés. En comparant les chaînes de peptides pour les isoformes de l'amélogénine (AMELX et AMELY) à celles identifiées dans notre échantillon, nous pouvions ainsi détecter les chaînes spécifiques à l'AMELY spécifiques au sexe masculin.

3.3.1.2 Détail des chaînes de peptides ciblées

Avec le MS, nous avons ciblé une liste de 40 chaînes de peptides sexuellement spécifiques qui composent l'amélogénine. Ces séquences ont été reproduites dans le tableau 15. Chaque lettre de la chaîne représente un acide aminé et la mention « ox » représente l'oxydation d'un acide aminé,

par exemple, pour la méthionine, ce sera la lettre M. Au spectromètre de masse, il est possible de cibler un peptide en cherchant la séquence précise d'acides aminés ou avec sa masse.

Tableau 15. Liste des 40 chaînes de peptides des isoformes de l'amélogénine ciblées par le spectromètre de masse.

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY
SIRPPYPSY	540,2796	X
SM _(ox) IRPPY	440,2233	Y
SYEVLTPK	525,2975	X, Y
YEVLTPKWKY	656,3528	X, Y
TALVLTPLK	478,313	X
WYQSIRPPY	605,31	X
WYESIRPPY	605,8	X
WYQSIRPPYP	653,8326	X
WYESIRPPYP	654,3259	X
WYQSIRPPYPS	697,35	X
WYESIRPPYPS	697,84	X
WYQSIRPPYPSY	778,88	X
WYESIRPPYPSY	779,37	X
WYQSIRPPYPSYG	807,39	X
WYESIRPPYPSYG	807,88	X
WYQSMIRPPY	670,83	Y
WYESMIRPPY	671,32	Y
WYQSM _(ox) IRPPY	678,82	Y
WYESM _(ox) IRPPY	679,32	Y
WYQSMIRPPYS	714,34	Y
WYESMIRPPYS	714,83	Y
WYQSM _(ox) IRPPYS	722,34	Y
WYESM _(ox) IRPPYS	722,83	Y
WYQSMIRPPYSS	757,86	Y
WYESMIRPPYSS	758,35	Y
WYQSM _(ox) IRPPYSS	765,86	Y
WYESM _(ox) IRPPYSS	766,35	Y
IALVLTPLK	484,3325	Y
SIRPPYPSYGYEPMG	857,401	X
SYEVLTPKWKYQSIRPPYP	780,0748	X
VLTPLKWKYQSIRPPYP	653,6961	X
VLTPLKWKYQSM _(ox) IRPPY	670,3568	Y

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY
M _(ox) IRPPY	396,7072	Y
SMIRPPY	432,2258	Y
SM _(ox) IRPPYS	483,7393	Y
M _(ox) PLPPHPGH	333,5007	X, Y
MPLPPH	346,1833	X, Y
GWLHHQIIP	367,866	X, Y
WLHHQIIPVLS	448,5875	X, Y
M _(ox) PLPPHPGHPGYINF	845,9063	X, Y

Les résultats que nous avons reçus de l'IRIC nous apparaissent sous forme de graphiques. Pour chaque échantillon, nous avons trois graphiques pour chaque peptide ciblé (figure 26). Le premier graphique est un pic représentant l'intensité de détection du peptide dans un échantillon comme sur les graphiques sur la première ligne de la figure 26. La présence d'un pic indique la présence du peptide dans l'échantillon. L'absence d'un pic d'intensité indique l'absence du peptide. Le deuxième graphique affiche des bandes de couleurs reliées au graphique de l'intensité. Ce graphique apparaît à gauche sur la deuxième ligne de la figure. Chaque couleur représente un clivage (ion b ou ion y) produit par l'action du gaz sur les peptides. L'intensité de chaque ion pour le peptide ciblé est, quant à elle, représentée par la largeur de la bande de couleur. Si on fait la somme de chacune des bandes de couleurs pour un échantillon donné, on obtient une intensité globale représentée par le pic sur le graphique de la première ligne. Le troisième graphique (à droite sur la deuxième ligne de la figure 26) illustre l'emplacement des clivages sur le spectre de l'intensité, nous ne nous en servons pas pour l'analyse.

SMIRPPY (440.2233)

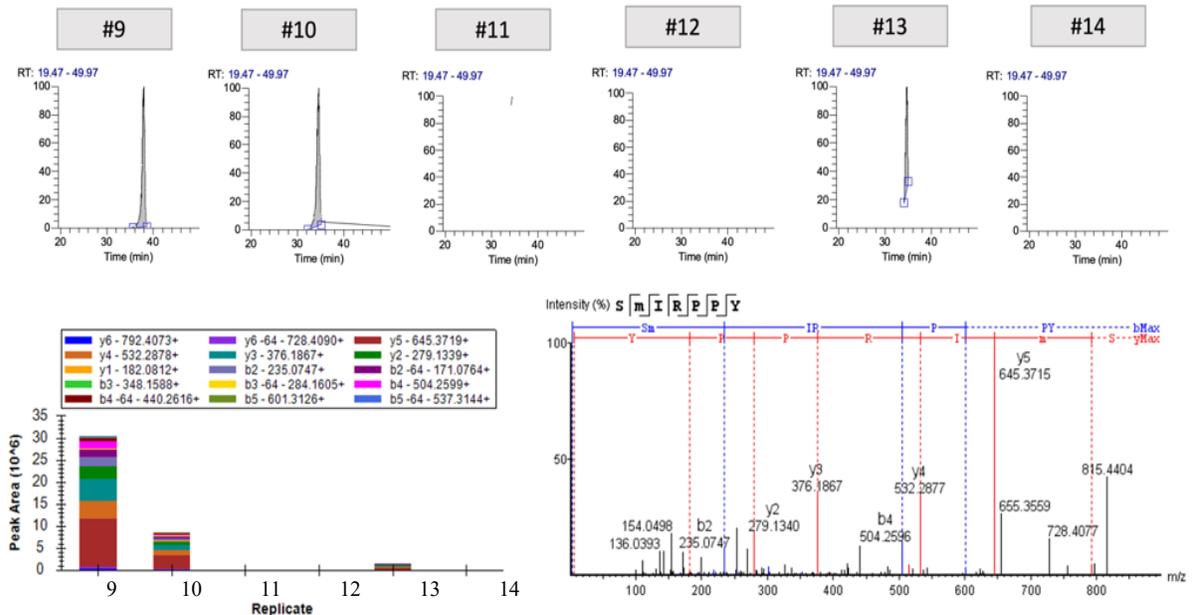


Figure 26. Représentation graphique des résultats (IRIC 2021). Exemples des échantillons n° 9 à 14.

Comme les pics d'intensités ne sont pas tous aussi évidents (pic plus ou moins prononcé), nous avons nous-mêmes établi un seuil (Éric Bonneil, 2022, communication personnelle) pour lequel nous avons évalué la présence ou l'absence d'une chaîne ciblée. La présence d'un peptide était attestée si au moins trois ions (ion b ou ion y sans distinction), ou trois bandes de couleur, étaient présents avec une intensité que nous jugions claire, c'est-à-dire que la largeur de la bande de couleur devait être visible et qu'il était possible de bien différencier les différentes bandes. Principalement, il fallait être capable de distinguer un pic sur les graphiques. Par exemple, dans la figure 26, le peptide SM_(ox)IRPPY était présent dans les échantillons n° 9, 10 et 13 puisque nous observons un pic dans les graphiques sur la première ligne. Nous voyons également les ions présents dans ces mêmes échantillons représentés par les bandes de couleurs sur le graphique de gauche sur la deuxième ligne. En résumé, un pic clair dans le graphique couplé à un nombre et à une intensité élevée d'ions présents indique de façon claire la présence du peptide en question, tandis que l'absence d'un pic et, par le fait même, l'absence d'une bande colorée indique clairement que le peptide n'était pas présent dans l'échantillon.

Nous avons donc recueilli les résultats selon la présence (P) ou l'absence (A) pour chacun des 40 peptides ciblés. Ensuite, nous avons classé les peptides selon s'ils étaient spécifiques au chromosome X (AMELX) ou Y (AMELY) et avons estimé le sexe selon la présence ou l'absence d'AMELX et d'AMELY pour chaque échantillon. La présence de n'importe lequel des 18 peptides associés au chromosome Y (tableau 16) indique que l'individu était de sexe masculin. Nous avons cependant pris soin d'aussi cibler des peptides associés au chromosome X, afin de nous assurer que nous avons bel et bien extrait l'amélogénine et que l'absence d'AMELY ne signifiait pas une absence totale des peptides dérivés de la protéine que nous voulions étudier (tableau 15).

Tableau 16. Liste des 18 peptides ciblés d'AMELY.

Peptides sur Y	Masse (m/z)
SM _(ox) IRPPY	440,2233
WYQSMIRPPY	670,83
WYESMIRPPY	671,32
WYQSM _(ox) IRPPY	678,82
WYESM _(ox) IRPPY	679,32
WYQSMIRPPYS	714,34
WYESMIRPPYS	714,83
WYQSM _(ox) IRPPYS	722,34
WYESM _(ox) IRPPYS	722,83
WYQSMIRPPYSS	757,86
WYESMIRPPYSS	758,35
WYQSM _(ox) IRPPYSS	765,86
WYESM _(ox) IRPPYS	766,35
IALVLTPLK	484,3325
VLTPK WYQSM _(ox) IRPPY	670,3568
M _(ox) IRPPY	396,7072
SMIRPPY	432,2258
SM _(ox) IRPPYS	483,7393

La présence d'un seul peptide d'Y (tableau 16) signifie automatiquement que l'individu était un homme. Il faut cependant faire attention. En effet, les 18 chaînes d'AMELY ciblées ne sont pas toutes détectées par le spectromètre de masse pour tous les échantillons masculins. Parfois, plusieurs chaînes d'AMELY sont détectées dans un échantillon ; parfois, il n'y en a qu'une seule et ce ne sont pas toujours les mêmes. Donc, même si le MS détecte un peptide d'AMELY, il

ne les détecte pas tous. Cela signifie que lorsqu'aucun peptide d'AMELY n'est détecté, il peut tout de même être présent, mais avec un signal et une intensité trop faible pour être détecté au MS. C'est pourquoi il est préférable de dire qu'un individu était soit de sexe masculin (M) ou « probablement » de sexe féminin (F). Pour qu'un individu soit déclaré comme féminin, il fallait cependant avoir détecté un ou plusieurs peptides d'AMELX. L'absence de peptides d'AMELX rendait l'échantillon invalide et donc une conclusion pour le sexe était impossible. Un échantillon était jugé bon si on avait au moins un peptide d'AMELX. Il était cependant préférable d'avoir plus d'un peptide d'AMELX. La présence de peptides d'AMELY (tableau 16) constitue l'élément déterminant d'un sexe masculin.

3.3.2 Traitement statistique des données de l'estimation du sexe

Après avoir estimé le sexe des individus archéologiques avec les méthodes ostéologique et protéomique, nous voulions pouvoir répondre à notre deuxième question de recherche qui consistait à comparer les deux processus d'estimation du sexe afin de commenter leur fiabilité. En d'autres mots, nous voulions savoir si la méthode de protéomique s'avérait comparable en termes de fiabilité avec la paléogénétique et si elle était en accord avec les méthodes ostéologiques pour pouvoir commenter le nombre de décédés par âge et par sexe dans nos échantillons de population.

Pour ce faire, nous avons effectué un traitement statistique de nos données de trois manières. Premièrement, nous voulions discuter de la fiabilité des chaînes de peptides choisies pour estimer le sexe et ainsi, déterminer une sorte de biomarqueur pour estimer le sexe correctement. En évaluant la présence ou l'absence d'une chaîne pour chaque échantillon, nous voulions déterminer les chaînes les plus fréquentes et les moins fréquentes pour AMELX et pour AMELY sous forme de pourcentages. Ainsi, nous avons tenté d'établir un noyau de peptides présents pour une majorité d'individus (selon le sexe) et de déterminer la meilleure combinaison, ou la combinaison de peptides la plus prédictive, pour estimer le sexe. L'abondance ou la fréquence (%) de certaines combinaisons pouvait donc nous informer si un peptide semblait plus fiable qu'un autre pour estimer le sexe correctement. La fréquence de la présence ou de l'absence de peptides d'AMELX et d'AMELY a été évaluée pour l'ensemble des individus et pour les individus séparés par groupes d'âge (juvéniles vs adultes).

Deuxièmement, nous voulions évaluer la comparabilité de l'estimation du sexe des deux méthodes (ostéologique vs protéomique). Pour ce faire, nous avons établi l'accord entre les résultats des deux méthodes avec un test du *kappa* de Cohen. Dans un autre chapitre, nous discuterons du nombre de résultats dissemblables et du nombre de résultats concordants pour l'ensemble des individus et en séparant les individus par cimetières et par groupes d'âge. Nous comparerons également les résultats de la protéomique avec ceux de l'ADN pour les quelques individus pour lesquels nous avons une confirmation du sexe par l'ADN. Nous évaluerons également l'accord entre les trois méthodes pour ces quelques individus avec un test *alpha* de Krippendorff.

Troisièmement, nous voulions évaluer les proportions d'hommes et de femmes, ou de garçons et de filles pour les juvéniles, dans chacun des échantillons de populations selon les deux méthodes. Ainsi nous avons pu constater s'il y avait une variation dans le nombre de décédés selon l'âge et le sexe et la méthode utilisée (protéomique vs ostéologie).

3.3.2.1 Justifications des tests effectués

Pour pouvoir répondre à notre deuxième question de recherche de façon adéquate et ainsi comparer la fiabilité de l'estimation du sexe ostéologique et protéomique et, pour un échantillon réduit ($N = 8$), avec la paléogénétique (ADN), nous avons effectué un traitement statistique de nos données. Pour ce faire, nous avons établi l'accord entre les résultats du sexe par l'ostéologie et la protéomique avec un test du *kappa* de Cohen, puis l'accord de ces deux méthodes avec l'ADN avec un test *alpha* de Krippendorff.

Le test du *kappa* de Cohen est un test statistique par tableau croisé qui fonctionne un peu de la même manière qu'un test de corrélation. Cependant, avec le *kappa* de Cohen, nous voulons analyser l'accord des résultats et non la corrélation qui implique un rapport entre les observations. Dans le cas du *kappa* de Cohen, nous voulons comparer les résultats (observation nominale binaire : homme ou femme) obtenus entre deux techniques d'analyse. Les résultats obtenus avec la première méthode ne sont pas en relation avec ceux obtenus avec la deuxième. La valeur du *kappa* de Cohen obtenue en comparant les observations des deux méthodes pour chaque individu

nous indique la force de l'accord entre les deux techniques (Cohen 1960; Laflamme et Run-Min 2020 : 237-240). Un tableau des valeurs du *kappa* (de 0 à 1) et de la relation correspondante (accord allant de nul à parfait) se trouve à l'annexe # 15. Ensuite, nous avons la significativité de l'accord ainsi décrit représentée par une valeur entre 0 et 1. Une valeur entre 0 et 0,05 (intervalle de confiance de 95%) est considérée comme significative. Le nombre d'individus observés est déterminant pour la significativité de l'analyse. L'échantillon minimum idéal se compose d'un minimum de 20 individus (Service de consultation statistique de l'Université de Montréal, 2023, communication personnelle). Lorsque nous avons classé nos individus par cimetière, l'échantillon était de moins de 20 individus. Lorsqu'un échantillon est petit, il y a plus de chance que les résultats divergents ressortent. Nous verrons au chapitre des résultats qu'heureusement la petitesse des échantillons classés n'a pas affecté la significativité dans notre cas.

Pour ce qui est du test *alpha* de Krippendorff, il mesure la fiabilité des résultats lorsqu'il y a plus de deux méthodes à comparer. Ici, il s'agit de comparer trois méthodes d'estimation du sexe pour lesquelles les résultats sont de type nominal et binaire. La valeur de l'*alpha* de Krippendorff se situe entre 0 et 1 (fiabilité inter-méthodologique nulle à forte). Une probabilité (q) de l'échec d'obtenir un *alpha* de valeur minimale est également calculée sous forme de pourcentage (annexe # 15) (Hayes et Krippendorff 2007 ; Krippendorff 2013 ; Zapf et al. 2016).

Afin de calculer le *kappa* de Cohen et l'*alpha* de Krippendorff, les résultats du sexe ont été notés de façon binaire, c'est-à-dire que l'individu pouvait être un homme ou une femme. Pour les méthodes ostéologiques, certains individus avaient des traits qui tendaient vers le masculin ou vers le féminin sans être déterminants. Pour les tests statistiques, un sexe observé comme TF devenait un sexe féminin, alors qu'un sexe observé comme TM devenait un sexe masculin. Les résultats indéterminés à la fois pour les méthodes ostéologiques et pour la protéomique n'ont pas été pris en compte dans le calcul ; ils étaient comptés comme des données manquantes pour le calcul du *kappa* de Cohen.

3.4 Conclusion du matériel et des méthodes

Une fois l'abrasion à l'acide effectuée sur les dents des 47 individus choisis parmi les trois cimetières à l'étude, l'analyse de 40 chaînes de peptides de l'amélogénine spécifiques aux chromosomes sexuels (AMELX et AMELY) a permis d'estimer le sexe des individus de notre échantillon.

Chapitre 4 — Résultats des analyses

Les analyses ciblant les peptides provenant de l'amélogénine ont produit des résultats pour estimer le sexe des individus à l'étude. Ici, nous avons détaillé les résultats des estimations du sexe avec la protéomique sous forme de tableaux complétés par des analyses statistiques. Puis, nous avons comparé les résultats selon les deux méthodes, soit l'estimation du sexe avec des observations ostéologiques et l'estimation du sexe en ciblant des peptides de l'amélogénine. Le sexe de huit individus a également été déterminé avec l'ADN ancien par Harding et collègues (Harding et al. 2020) et par Diane Martin-Moya et collègues (2023, communication personnelle) et ces résultats ont servi de comparatif supplémentaire. Le calcul du nombre de peptides présents associés aux chromosomes X ou Y pour chaque échantillon a fait ressortir les peptides les plus fréquemment détectés du lot sous forme de fréquence de détection (%).

4.1 Retour sur les questions de recherche

Avant de décrire les résultats de nos analyses d'estimation du sexe avec une méthode de protéomique, énumérons rapidement nos questions de recherche.

Nous nous sommes attaqués à plusieurs questions lors de ce projet. Premièrement, nous voulions choisir un protocole approprié pour extraire les protéines de l'émail dentaire et ainsi nous permettre d'analyser les peptides dérivés de l'amélogénine. Le protocole choisi est décrit dans le troisième chapitre (Chapitre 3 – Matériel et méthodes : 62) (Stewart et al. 2016; 2017). Deuxièmement, nous voulions savoir si les données d'estimation du sexe obtenues grâce à la protéomique concordaient ou non avec les données d'estimation du sexe obtenues grâce aux méthodes ostéologiques les plus utilisées et, pour huit individus, grâce à l'ADN ancien également. Finalement, nous voulions utiliser les nouvelles données de protéomique pour affiner les conclusions d'études précédentes (Gutierrez 2018; Vigeant 2012; Arkéos 2008; Ethnoscop 2006; 2015) sur la mortalité relative au sexe dans les trois cimetières à l'étude.

4.2 Estimation du sexe : Analyse des résultats

4.2.1 Résultats du sexe avec l'ADN ancien à des fins comparatives

Le tableau suivant présente le sexe confirmé par l'ADN ancien (tableau 17) pour huit individus soit un de Sainte-Marie, un de Pointe-aux-Trembles et six de Notre-Dame.

Tableau 17. Sexe déterminé avec l'ADN ancien pour huit individus de notre échantillon.

Individus	Cimetière	Sexe ADN (Harding et al. 2020 ; Martin-Moya 2023)
2B7	Ste-Marie	M
7A9-S16	Pointe-aux-Trembles	M
11D-S1	Notre-Dame	M
12D-S1	Notre-Dame	M
4G-S1	Notre-Dame	F
12EE-S5	Notre-Dame	F
12W-S13	Notre-Dame	M
12Z-S1	Notre-Dame	M

4.2.2 Résultats de l'estimation du sexe avec la protéomique

Nous verrons d'abord l'estimation du sexe qui découle de la présence ou de l'absence de chaque peptide ciblé pour chaque échantillon (voir annexe # 13). Ces résultats ont également fait l'objet d'une représentation graphique.

Le tableau 18 présente le sexe estimé d'après la méthode de protéomique et donc selon la présence ou l'absence de peptides spécifiques au chromosome Y pour tous les individus des trois cimetières à l'étude.

Tableau 18. Sexe estimé avec la protéomique pour le cimetière de Notre-Dame de Montréal (N = 10), le cimetière de Pointe-aux-Trembles (N = 15) et le cimetière de Sainte-Marie de Beauce (N = 22).

Individus	Âge moyen estimé	Sexe estimé, protéomique
Notre-Dame		
4G-S1	16-49 ans	F
11D-S1	> 40 ans	M
12C-S2	9-15 ans	M
12AA-S6	2,5 ans	M
12CC-S3	14-20 ans	F
12D-S1	20-24 ans	M
12EE-S5	16-39 ans	F
12W-S13	4,5 ans	F
4M -1	30-35 ans	M
12Z-S1	16-24 ans	M
Pointe-aux-Trembles		
7A11-S61	16-49 ans	F
7A2-S1	1,5-2 ans	F
7A2-S5	>40 ans	M
7A2-S7	20-49 ans	M
7A2-S22	1,5 an	F
7A2-S24	1,5 an	F
7A2-S32	1,5-2 ans	M
7A9-S13	16-29 ans	F
7A9-S16	>30 ans	M
7A9-S18	1,5 an	M
7A9-S27	>40 ans	F
7A9-S38	16-29 ans	F
7A9-S39	4-6 ans	F
7A9-S53	1,5-2,5 ans	F
7A9-S55	1-3 ans	F
Sainte-Marie		
1C2	7-8 ans	F
1G2	1,5 an	F
1G5	16-20 ans	F
2A1	5,5 ans	ind.
2A13	10-11 ans	F

Individus	Âge moyen estimé	Sexe estimé, protéomique
2A15	9 ans	F
2A2	6 ans	F
2B12	1,5-2 ans	F
2B14	16-39 ans	F
2B15	30-35 ans	M
2B5	30-59 ans	M
2B7	20-49 ans	M
2E13	17 ans	F
2E2	6 mois	F
2E3	2-3 ans	F
2E4	2-3 ans	F
2E7	2,5 ans	M
2E8	17 ans	M
2G12	30-59 ans	F
2G4	16-39 ans	M
2G5	5,5 ans	F
2G6	20-35 ans	F

Pour ce qui est de l'estimation du sexe estimé grâce à l'amélogénine, nous avons des données qui incluent les estimations des juvéniles et des adultes pour les trois cimetières. Indépendamment des groupes d'âge, 62 % de l'échantillon est composé de femmes ou de filles (N = 29), 36 % d'hommes et de garçons (N = 18), tandis qu'un seul individu était de sexe indéterminé. Sur les 29 individus de sexe féminin, 17 étaient juvéniles soit un peu plus de la moitié des individus de sexe féminin. Pour ce qui est des 18 individus de sexe masculin, 5 étaient juvéniles, ce qui correspond environ au tiers des individus de sexe masculin. Pour ce qui est des adultes, il y avait 12 femmes et 12 hommes.

Également, on constate que, pour les adultes, il y a autant d'hommes que de femmes pour le cimetière de Sainte-Marie et presque qu'autant d'individus des deux sexes pour les cimetières de Pointe-aux-Trembles et de Notre-Dame. Pour les juvéniles, on constate qu'il y a une majorité de filles pour les cimetières de Sainte-Marie et de Pointe-aux-Trembles et presque autant de filles que de garçons pour le cimetière de Notre-Dame. La représentation graphique (figures 27, 28 et 29) qui suit présente les détails des résultats d'estimation du sexe par groupe d'âge pour

chaque cimetière tel qu'effectué pour les méthodes ostéologiques au chapitre 3. Les données brutes ayant servi à faire ces graphiques se trouvent à l'annexe # 14.

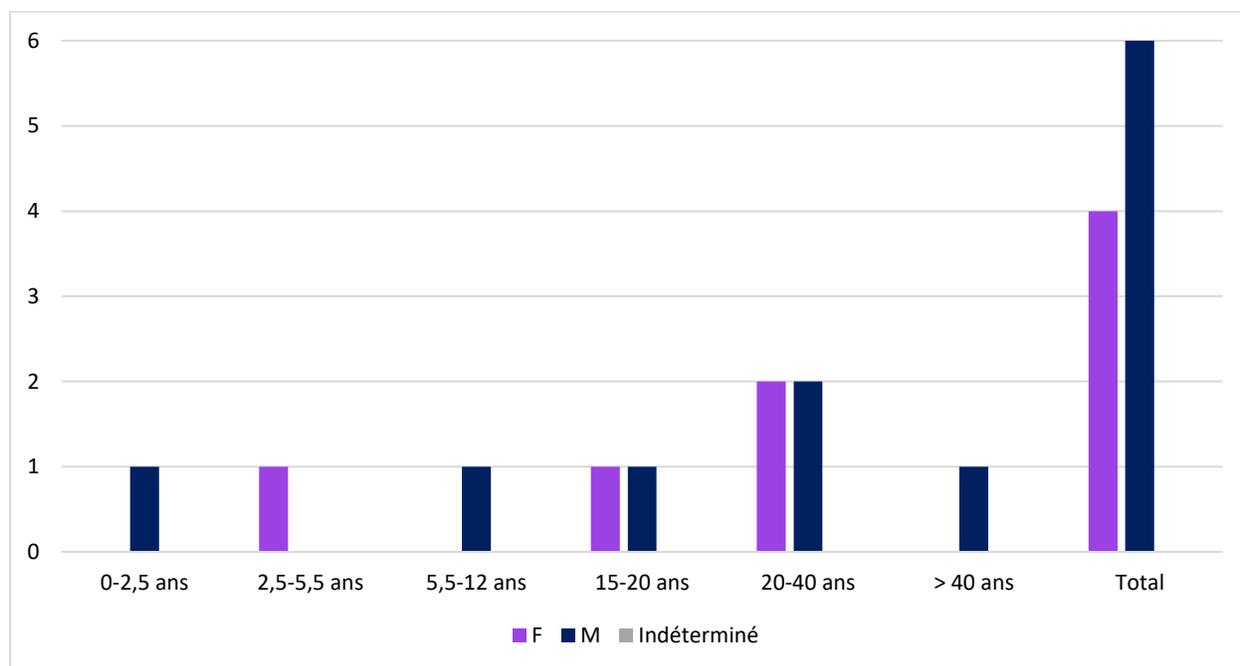


Figure 27. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe estimé par la protéomique par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Notre-Dame.

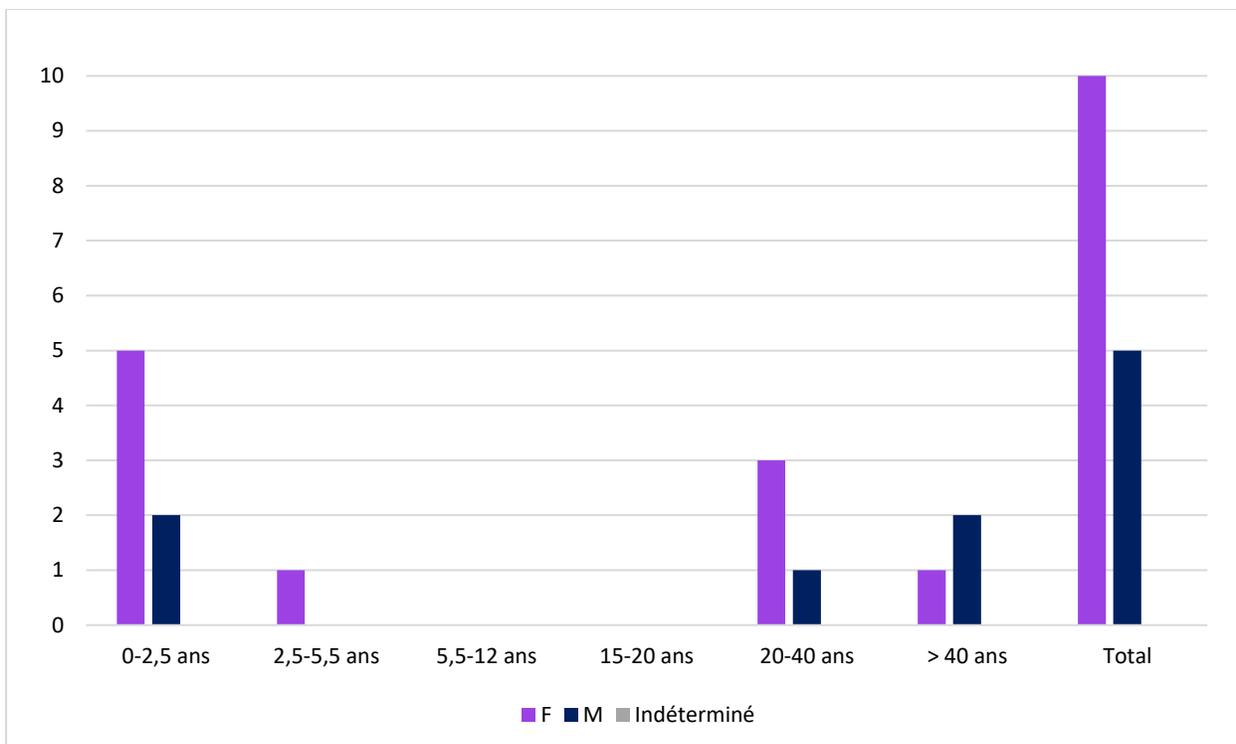


Figure 28. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe estimé par la protéomique par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Pointe-aux-Trembles.

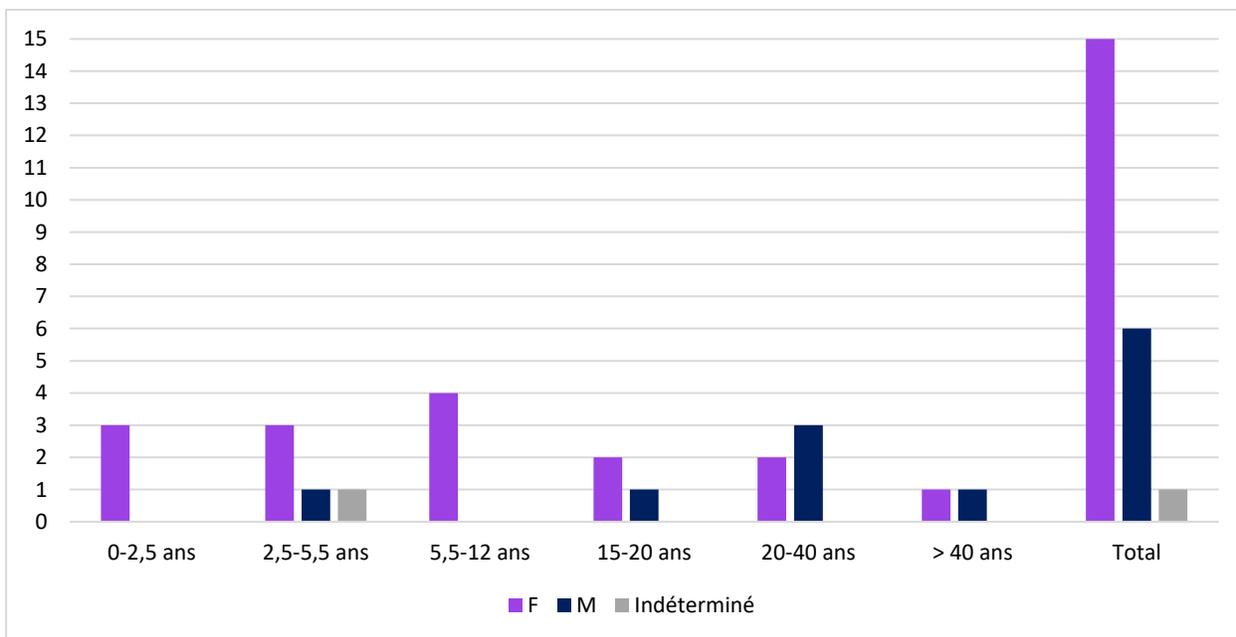


Figure 29. Graphique du nombre d'individus de chaque sexe estimé par la protéomique par groupe d'âge pour l'échantillon du cimetière de Sainte-Marie de Beauce.

4.2.3 Méthodes ostéologiques traditionnelles vs protéomique : Comparaison des résultats d'estimation du sexe

Au sein de l'échantillon complet, les résultats provenant des séquences de peptides montrent une concordance presque parfaite avec les données prises sur les squelettes. Sept échantillons n'avaient pas de résultats comparatifs puisque l'estimation de leur sexe par des méthodes ostéologiques s'était avérée impossible (tableau 19, en bleu). Au total, 34 des 40 individus montrent une concordance de l'estimation du sexe pour les deux méthodes. Seulement cinq échantillons étaient discordants (tableau 19, en rouge) et un échantillon était non concluant pour la protéomique (tableau 19, en jaune). Ceci signifie que 85 % des résultats étaient en accord. Les six échantillons pour lesquels les résultats différaient entre les deux méthodes provenaient de juvéniles et donc, l'estimation ostéologique du sexe était peu fiable au départ. Il en est de même pour les individus dont le sexe était indéterminé avec les méthodes ostéologiques; il s'agissait tous de juvéniles.

Tableau 19. Comparaison du sexe estimé d'après les méthodes ostéologiques et la protéomique pour tous les individus des trois cimetières à l'étude (résultats discordants en rouge, non concluants en jaune et sexe ostéologique indéterminé en bleu).

Individus	Âge moyen estimé	Sexe estimé, ostéologie	Sexe estimé, protéomique
Notre-Dame			
4G-S1	16-49 ans	F	F
11D-S1	> 40 ans	M	M
12C-S2	9-15 ans	TM	M
12AA-S6	2,5 ans	F	M
12CC-S3	14-20 ans	F	F
12D-S1	20-24 ans	TM	M
12EE-S5	16-39 ans	TF	F
12W-S13	4,5 ans	ind.	F
4M -1	30-35 ans	M	M
12Z-S1	16-24 ans	M	M
Pointe-aux-Trembles			
7A11-S61	16-49 ans	F	F
7A2-S1	1,5-2 ans	F	F
7A2-S5	>40 ans	TM	M

Individus	Âge moyen estimé	Sexe estimé, ostéologie	Sexe estimé, protéomique
7A2-S7	20-49 ans	TM	M
7A2-S22	1,5 an	F	F
7A2-S24	1,5 an	F	F
7A2-S32	1,5-2 ans	F	M
7A9-S13	16-29 ans	F	F
7A9-S16	>30 ans	TM	M
7A9-S18	1,5 an	ind.	M
7A9-S27	>40 ans	F	F
7A9-S38	16-29 ans	F	F
7A9-S39	4-6 ans	F	F
7A9-S53	1,5-2,5 ans	ind.	F
7A9-S55	1-3 ans	ind.	F
Sainte-Marie			
1C2	7-8 ans	F	F
1G2	1,5 an	ind.	F
1G5	16-20 ans	F	F
2A1	5,5 ans	F	ind.
2A13	10-11 ans	ind.	F
2A15	9 ans	F	F
2A2	6 ans	TM	F
2B12	1,5-2 ans	ind.	F
2B14	16-39 ans	F	F
2B15	30-35 ans	M	M
2B5	30-59 ans	M	M
2B7	20-49 ans	TM	M
2E13	17 ans	F	F
2E2	6 mois	TM	F
2E3	2-3 ans	F	F
2E4	2-3 ans	F	F
2E7	2,5 ans	F	M
2E8	17 ans	M	M
2G12	30-59 ans	F	F
2G4	16-39 ans	M	M
2G5	5,5 ans	F	F
2G6	20-35 ans	F	F

4.3 Résultats finaux des analyses de l'estimation du sexe avec la protéomique

4.3.1 Résultats des analyses statistiques

À la lumière des tests statistiques, les résultats des deux méthodes d'estimation du sexe ont un accord presque parfait ($kappa = 0,733$) avec une très haute significativité ($< 0,001$) pour les 39 individus valides provenant des trois cimetières sans distinction.

Bien que le nombre d'individus soit plutôt petit si on considère chaque cimetière séparément, ce qui a un impact sur la significativité statistique, nous avons analysé l'accord entre les résultats des deux méthodes pour chaque cimetière individuellement. L'accord est presque parfait ($kappa = 0,769$) avec une significativité plutôt élevée ($0,018$) pour les 9 individus valides pour Notre-Dame. L'accord est presque parfait ($kappa = 0,800$) avec une très forte significativité ($0,005$) pour les 12 individus valides de Pointe-aux-Trembles. Puis, l'accord est presque parfait ($kappa = 0,640$) avec une très forte significativité ($0,006$) pour les 18 individus valides de Sainte-Marie.

Si on compare les résultats des deux méthodes en séparant les individus par groupes d'âge, l'accord est parfait ($kappa = 1,000$) avec une très haute significativité ($< 0,001$) pour les 24 adultes, mais il est léger ($kappa = 0,074$) avec une faible significativité ($0,770$) pour les 15 individus juvéniles valides. Cela signifie que les résultats de l'estimation du sexe diffèrent beaucoup pour les individus juvéniles. Cette observation est toutefois normale puisque l'estimation du sexe avec les méthodes ostéologiques est peu fiable pour les individus prépubères. Il n'est donc pas surprenant que le résultat final avec la protéomique soit différent. Les résultats détaillés des tests statistiques se trouvent à l'annexe # 15.

Pour ce qui est de la comparaison de ces deux méthodes avec l'ADN pour huit individus, on constate de prime abord que les résultats sont identiques pour toutes les méthodes sauf pour un individu où les résultats diffèrent pour les trois méthodes (tableau 20). Statistiquement, les résultats ont une fiabilité inter-méthodologique forte ($alpha = 0,8036$) avec une probabilité d'échec de 9,06 % si l'échantillon complet était analysé (voir annexe # 15).

Tableau 20. Comparaison de l'estimation du sexe selon la protéomique, l'ostéologie et l'ADN pour huit individus de notre échantillon.

Individus	Cimetière	ADN (Harding et al. 2020 ; Martin-Moya 2023)	Protéomique	Ostéologie
2B7	Ste-Marie	M	M	TM
7A9-S16	Pointe-aux-Trembles	M	M	TM
11D-S1	Notre-Dame	M	M	M
12D-S1	Notre-Dame	M	M	TM
4G-S1	Notre-Dame	F	F	F
12EE-S5	Notre-Dame	F	F	TF
12W-S13	Notre-Dame	M	F	ind.
12Z-S1	Notre-Dame	M	M	M

4.3.2 Analyse de la fréquence de détection des chaînes de peptides de l'amélogénine

Le nombre de peptides présents associés aux chromosomes X ou Y pour chaque échantillon a également été calculé (voir annexe # 16). Aussi, nous avons fait ressortir les peptides les plus fréquemment détectés du lot sous forme de fréquence de détection (%). Nous avons dressé la liste des peptides présents le plus souvent dans nos échantillons, ainsi que ceux les moins présents. L'objectif derrière cette liste était de déterminer quels peptides sont les plus propices à la détection pour estimer le sexe et ainsi d'établir un noyau de peptides à cibler lors d'une analyse de protéomique. L'abondance ou le pourcentage élevé de détection d'un ou de plusieurs peptides vise à nous informer si ceux-ci semblent plus fiables que d'autres pour estimer le sexe.

Tout d'abord, en analysant le nombre de peptides d'AMELX et d'AMELY présents pour chacun des échantillons, nous constatons qu'en moyenne 4,56 peptides d'AMELX sont détectés pour les individus des deux sexes et que 2,67 peptides d'AMELY sont détectés pour les individus de sexe masculin. En moyenne, 5,56 chaînes de peptides sont détectées au total parmi celles ciblées pour permettre une estimation du sexe des individus à l'étude.

Si on sépare les données par groupes d'âge, on constate que, pour les adultes, en moyenne 5,84 peptides d'AMELX sont détectés pour les individus des deux sexes et que 2,92 peptides d'AMELY sont détectés pour les individus de sexe masculin. Pour ce qui est des juvéniles, en moyenne 3,17 peptides d'AMELX sont détectés pour les individus des deux sexes et que 2 peptides d'AMELY sont détectés pour les individus de sexe masculin. En moyenne, 7,36 chaînes de peptides sont détectées au total parmi celles ciblées pour permettre une estimation du sexe des adultes alors qu'en moyenne 3,61 chaînes de peptides sont détectées pour le groupe des juvéniles. L'annexe # 16 détaille la détection des peptides pour tous les échantillons alors que le tableau 21 montre les moyennes calculées.

Tableau 21. Moyennes du nombre de peptides détectés par le spectromètre de masse parmi ceux ciblés par individu.

Type	Moyenne, tous les groupes d'âge	Moyenne, individus adultes	Moyenne, individus juvéniles
Nombre de peptides détectés pour X	4,56	5,84	3,17
Nombre de peptides détectés pour Y (individus masculins)	2,67	2,92	2
Nombre de peptides détectés au total	5,56	7,36	3,61

Ensuite, on constate que, sur les 40 chaînes de peptides ciblées, seulement 19 ont été détectées au moins une fois dans nos échantillons (tableau 22). La moitié des chaînes de peptides ciblées ne sont donc pas diagnostiques du sexe puisque non détectées dans nos échantillons.

Tableau 22. Liste des 19 chaînes de peptides détectées par le spectromètre de masse parmi les 40 ciblées.

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY
SM _(ox) IRPPY	440,2233	Y
WYESM _(ox) IRPPY	679,32	Y
VLTPLK WYQSM _(ox) IRPPY	670,3568	Y
M _(ox) IRPPY	396,7072	Y
SMIRPPY	432,2258	Y
SM _(ox) IRPPYS	483,7393	Y
TALVLTPLK	478,313	X
WYQSIRPPYP	653,8326	X
WYESIRPPYP	654,3259	X
WYESIRPPYPS	697,84	X

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY
WYESIRPPYPSY	779,37	X
WYESIRPPYPSYG	807,88	X
SIRPPYPSYGYEPMG	857,401	X
SYEVLTPKWKYQSIRPPYP	780,0748	X
VLTPKWKYQSIRPPYP	653,6961	X
SYEVLTPK	525,2975	X, Y
YEVLTPKWKY	656,3528	X, Y
WLHHQIIPVLS	448,5875	X, Y
M _(ox) PLPPHPGHPGYINF	845,9063	X, Y

Le tableau 23 résume le nombre de peptides d'AMELX et d'AMELY détectés sur le total possible. Les peptides associés à la fois au chromosome X et au chromosome Y ont été regroupés sous les peptides d'AMELX puisqu'ils ne sont pas discriminants selon le sexe, contrairement aux peptides d'AMELY dont la présence indique un sexe masculin (chromosome Y). Le nombre de peptides détectés sur ceux ciblés est plutôt faible. Voyons tout de même lesquels, parmi ceux détectés au moins une fois, sont les plus déterminants pour estimer le sexe dans notre échantillon (N = 48).

Tableau 23. *Résumé de la détection des chaînes de peptides ciblées.*

Chromosome	Peptides détectés	Peptides ciblés	Pourcentage de détection
AMELY	6	18	33,33 %
AMELX	13	22	59,10 %
Total	19	40	47,50 %

La figure 30 illustre le pourcentage d'échantillons dans lesquels on retrouve les peptides d'AMELX détectés au moins une fois par le spectromètre de masse pour l'ensemble des échantillons, ainsi que pour les individus séparés par groupes d'âge (adultes *versus* juvéniles). La figure 31, quant à elle, illustre le pourcentage d'échantillons dans lesquels on retrouve les peptides d'AMELY détectés au moins une fois par le spectromètre de masse pour les échantillons identifiés comme étant de sexe masculin pour l'ensemble des individus, ainsi que pour les individus séparés par groupes d'âge. Des tableaux détaillés de la fréquence de détection des peptides représentée sous forme numérique et de pourcentage se trouvent à l'annexe # 17.

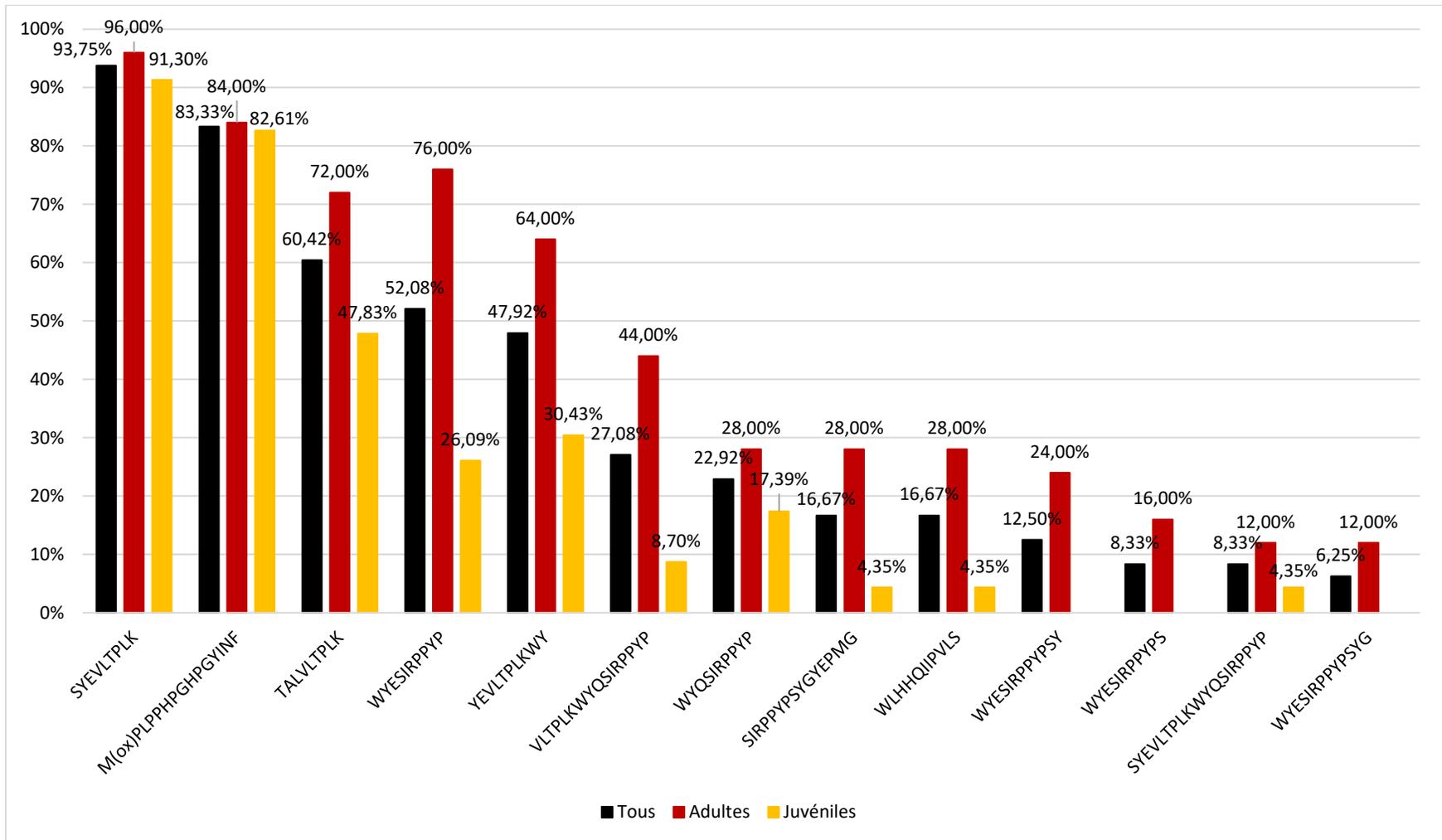


Figure 30. Pourcentage de détection des peptides d'AMELX pour l'ensemble des échantillons, pour les individus adultes et pour les individus juvéniles.

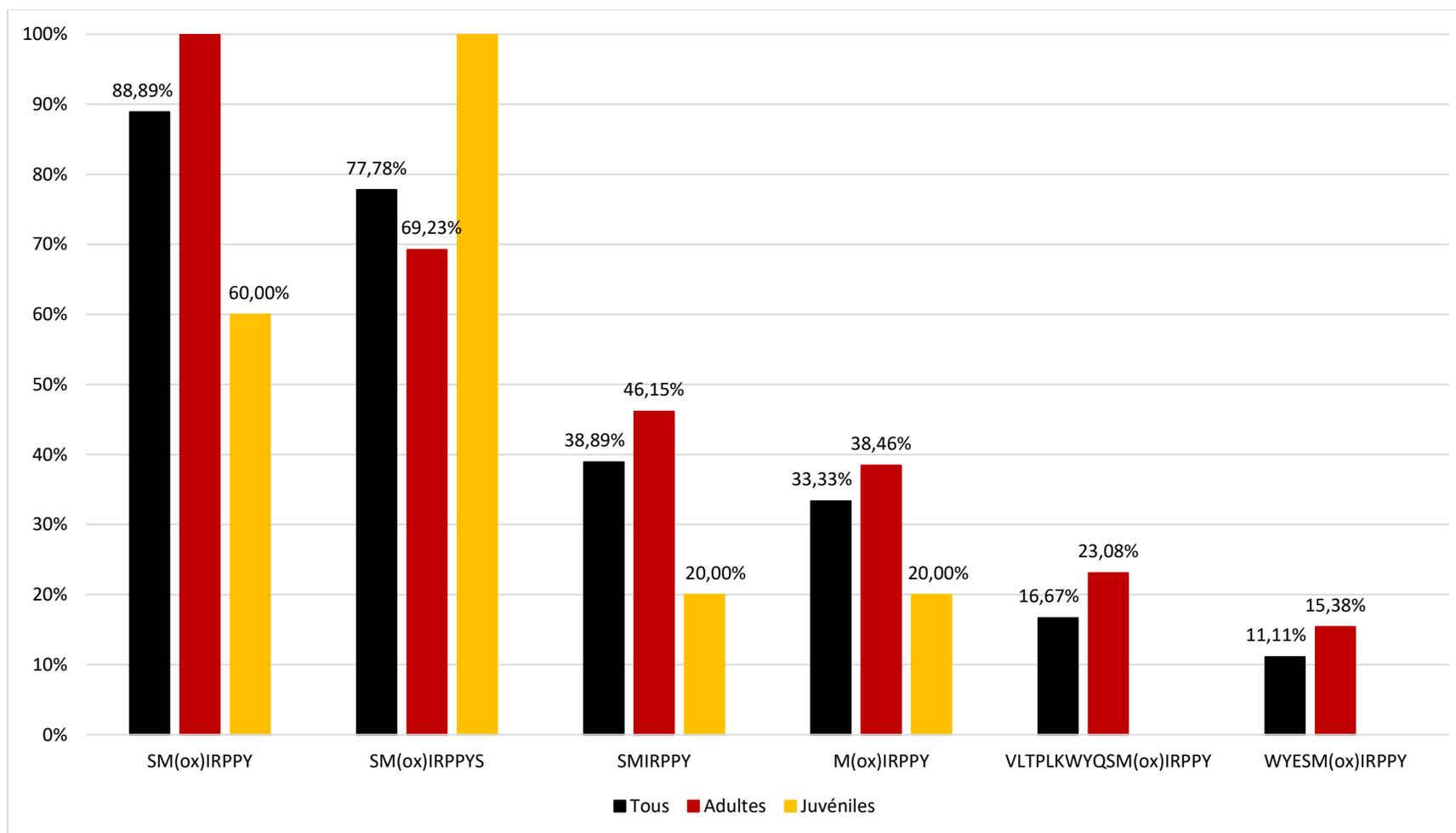


Figure 31. Pourcentage de détection des peptides d'AMELY pour les échantillons masculins uniquement.

En ce qui concerne les peptides présents dans un plus grand nombre d'échantillons, une liste de ceux qui ont été détectés dans plus de 50 % des échantillons est dressée au tableau 24.

Tableau 24. *Peptides détectés le plus fréquemment dans la totalité des échantillons.*

Peptides	AMELX ou AMELY	Pourcentage
SYEVLTPK	X	93,75 %
M _(ox) PLPPHPGHPGYINF	X	83,33 %
TALVLTPLK	X	60,42 %
WYESIRPPYP	X	52,08 %
SM _(ox) IRPPY	Y	88,89%
SM _(ox) IRPPYS	Y	77,78 %

Si on analyse la fréquence de détection des peptides d'AMELX et d'AMELY en séparant nos échantillons par groupe d'âge (adultes vs juvéniles), nous arrivons à des constats similaires par rapport aux peptides les plus fréquents (tableau 25 et tableau 26).

Tableau 25. *Peptides détectés le plus fréquemment dans les échantillons pour les individus adultes.*

Peptides	AMELX ou AMELY	Pourcentage
SYEVLTPK	X	96,00 %
M _(ox) PLPPHPGHPGYINF	X	84,00 %
TALVLTPLK	X	72,00 %
WYESIRPPYP	X	76,00 %
YEVLTPKWKY	X	64,00 %
SM _(ox) IRPPY	Y	100,00%
SM _(ox) IRPPYS	Y	69,23 %

Tableau 26. *Peptides détectés le plus fréquemment dans les échantillons pour les individus juvéniles.*

Peptides	AMELX ou AMELY	Pourcentage
SYEVLTPK	X	91,30 %
M _(ox) PLPPHPGHPGYINF	X	82,61 %
SM _(ox) IRPPY	Y	60,00%
SM _(ox) IRPPYS	Y	100,00 %

4.4 Conclusion des résultats

En résumé, l'accord entre les résultats des méthodes ostéologique et protéomique pour estimer le sexe est presque parfait d'un point de vue statistique et ce rapport est hautement significatif. En effet, les résultats sont concordants pour 85 % des individus des trois cimetières et tous les désaccords sont pour des individus juvéniles. Au regard des peptides, seulement près de

50 % de tous les peptides ciblés ont été détectés dans nos échantillons. Puis, en moyenne, 5,56 chaînes de peptides parmi toutes celles ciblées étaient détectées par individu et permettaient ainsi d'estimer le sexe. Il a été possible d'établir un noyau de six peptides plus déterminants pour l'analyse ciblée.

Dans le prochain chapitre, nous avons discuté du nombre de résultats discordants et du nombre de résultats concordants pour l'ensemble des individus et en séparant les individus par cimetière et par groupe d'âge. Nous avons ainsi pu discuter de la fiabilité des méthodes ainsi que de la mortalité des juvéniles en ajoutant les nouvelles estimations du sexe aux données connues. Nous avons discuté également des peptides ciblés et de leur fiabilité comme biomarqueurs.

Chapitre 5 — Discussion

À partir des résultats comparatifs de l'estimation du sexe avec les méthodes ostéologiques et avec la protéomique, il est possible de tirer quelques conclusions. Ce dernier chapitre vise à commenter les résultats présentés dans le chapitre précédent afin de répondre de manière plus détaillée à nos questions de recherche. Les résultats obtenus avec la protéomique par rapport à ceux obtenus avec les méthodes ostéologiques ont été classés selon si le sexe était confirmé, modifié ou attribué par la protéomique. Nous avons discuté de ces résultats et émis des hypothèses pour expliquer les résultats divergents principalement. Nous avons également discuté de l'impact des pathologies et de la taphonomie sur l'acquisition des données. Puis nous avons terminé en commentant l'importance de l'apport des données de protéomique sur les études sur la mortalité, les limites de l'étude ainsi que les futures avenues de recherche.

5.1 Commentaires sur la comparaison des résultats d'estimation du sexe

Afin de bien répondre à nos questions de recherche, nous avons d'abord discuté de la comparaison des résultats d'estimation du sexe selon les deux méthodologies utilisées en abordant les résultats concordants et discordants. Nous avons vu quelles lacunes ont été comblées par les résultats de la protéomique et ce que ces nouvelles données nous révèlent sur la mortalité dans notre échantillon réduit.

5.1.1 Des réponses aux questions de recherche

5.1.1.1 Fiabilité des méthodes d'estimation du sexe : Comparaison d'ordre méthodologique

Selon nos résultats, nous avons établi qu'il y avait un accord presque parfait entre les résultats d'estimation du sexe obtenus avec les méthodes ostéologiques à partir du bassin et du crâne et avec la protéomique à partir de l'email dentaire. En effet, 85 % des résultats étaient en accord. Les quelques résultats discordants provenaient tous de juvéniles.

Pour chaque cimetière, la protéomique a confirmé un certain nombre de déterminations faites par l'observation ostéologique. La protéomique a permis aussi d'attribuer le sexe à des

individus pour lesquels l'ostéologie n'a pu le faire. Puis, la protéomique a modifié l'estimation du sexe pour quelques individus. Le tableau 27 détaille le nombre de résultats confirmés, attribués et modifiés par la protéomique pour chaque cimetière indépendamment du groupe d'âge.

Tableau 27. Décompte des résultats ostéologiques confirmés, modifiés ou attribués de l'estimation du sexe selon deux méthodes.

Cimetières	Confirmés	Modifiés	Attribués
Notre-Dame	8	1	1
Pointe-aux-Trembles	11	1	3
Sainte-Marie de Beauce	15	4	3
Total	34	6	7

Les résultats ostéologiques des individus adultes (N= 24) ont tous été confirmés par la protéomique alors que seulement 10 sur 23 ont été confirmés par la protéomique pour les juvéniles (1 de ND, 4 de PAT et 5 de SM). Les résultats ostéologiques attribués et modifiés par la protéomique sont tous associés à des juvéniles. Pour les résultats ostéologiques modifiés, le tiers des individus passe de masculin à féminin (2/6) alors que la moitié passe plutôt de féminin à masculin (3/6). Le dernier individu (2A1) était également de sexe féminin selon les méthodes ostéologiques, mais n'a pas livré de résultats avec la protéomique et est donc non concluant. Nous discuterons des raisons qui expliquent ce résultat non concluant plus loin.

- Résultats de l'estimation du sexe modifiés par la protéomique

C'est la fiabilité réduite des méthodes ostéologiques (Schutkowski 1993) pour les juvéniles qui explique qu'un individu classé comme féminin au départ s'est révélé être finalement un individu masculin (individus 12AA-S6, 7A2-S32 et 2E7). En effet, les traits dimorphiques qui se développent à la puberté sont reliés à la morphologie permettant aux femmes de donner naissance, ainsi qu'à la robusticité qui est généralement associée aux hommes (White et Folkens 2005). Comme les traits sont peu développés et d'apparence dite féminine durant l'enfance, il est facile de surestimer le nombre de filles dans les échantillons d'individus immatures.

Pour ce qui est des individus classés comme masculins qui se sont révélés être des individus féminins (individus 2A2 et 2E2), l'ambiguïté des traits observés ostéologiquement pourrait

également expliquer ce reclassement. En effet, les traits avaient été évalués comme ayant une « tendance » masculine. Ils étaient donc peu développés.

Outre la fiabilité réduite des méthodes ostéologiques pour estimer le sexe des juvéniles (White et Folkens 2005 ; Scheuer, Black, et Schaefer 2009 ; Schutkowski 1993), d'autres raisons peuvent expliquer les résultats discordants avec la protéomique. Bien que la méthode de protéomique soit considérée comme fiable par l'accord statistique parfait ($kappa = 1,000$) entre les deux méthodes pour l'ensemble des individus adultes, il se peut tout de même que l'estimation du sexe par la protéomique soit en faute dans quelques cas. Les individus identifiés comme masculins avec l'ostéologie et dont le sexe change pour féminin avec la protéomique pourraient être réellement des individus masculins. Cela s'explique par la possibilité pour le spectromètre de masse de ne pas détecter correctement les peptides ciblés pour AMELY. Le signal des peptides pourrait être trop faible pour avoir été détecté par l'appareil (Parker et al. 2019). La conservation déficiente des peptides pourrait également être en cause.

Pour ce qui est de 2A2 (échantillon #18) et de 2E2 (échantillon #36), nous croyons que le sexe féminin établi avec la protéomique est juste puisque la détection de peptides d'AMELX s'est avérée adéquate. En effet, pour le premier individu, six peptides d'AMELX ont été détectés dont quatre font partie de la liste de biomarqueurs établie au quatrième chapitre (Chapitre 4 – Résultats des analyses : 94). Pour le deuxième individu, seulement deux peptides d'AMELX ont été détectés, mais ils sont tous les deux sur la liste des biomarqueurs. L'annexe # 18 fournit des détails sur la détection des peptides pour chaque échantillon dont le sexe a été modifié par la méthode d'analyse employée.

- Individus identifiés comme étant de sexe masculin : détection des peptides d'AMELY

Comme nous l'avons vu au chapitre précédent, la règle pour établir le sexe d'un individu à partir de l'analyse de l'amélogénine est la suivante : la détection d'un seul des 18 peptides spécifiques à AMELY se voyait attribuer un sexe masculin. On attribuait le sexe féminin aux individus pour qui il y avait une détection des 21 autres peptides sans la détection d'AMELY. Cependant, l'ensemble des 18 peptides d'AMELY n'a été détecté dans aucun échantillon

masculin. En effet, environ deux peptides d'AMELY sont détectés en moyenne pour identifier un échantillon masculin ; et il ne s'agit pas toujours des mêmes deux peptides. De plus, seulement six chaînes d'AMELY sur les 18 ont été détectées au moins une fois dont uniquement deux ($SM_{(ox)}IRPPY$ et $SM_{(ox)}IRPPYS$) dans plus de 50 % des échantillons. Même si ces deux peptides représentent d'excellents biomarqueurs pour identifier les individus masculins, ils n'étaient pas présents dans la totalité des échantillons masculins (annexe # 18). Le premier se trouvait dans tous les échantillons masculins adultes (100 %), mais il était présent seulement dans 60 % des échantillons masculins juvéniles. Le deuxième, quant à lui, se trouvait dans tous les échantillons masculins juvéniles (100 %), mais il était présent seulement dans 70 % des échantillons masculins adultes. La non-détection de tous les peptides ciblés pour un échantillon donné pourrait être dû aux manipulations, à la petitesse des échantillons liquides, à la sensibilité du spectromètre de masse ou encore à la conservation du matériel biologique.

- Analyse d'un résultat non concluant pour la protéomique

Pour ce qui est du résultat de protéomique non concluant, aucun peptide n'a été détecté pour cet échantillon. Il s'agit de l'échantillon qui correspond à l'individu 2A1 du cimetière de Sainte-Marie. Pour cet individu, deux dents ont été utilisées, soit un germe dentaire pour tester le protocole et une molaire permanente mature, sauf au niveau des racines qui n'étaient pas encore complètes dû au jeune âge de l'individu. Lors du test, nous avons trempé le germe dentaire dans l'acide pendant 5 minutes et nous avons filtré l'échantillon avec un *ZipTip*. Le spectromètre de masse a détecté une protéine inconnue de 70 kDa, mais pas l'amélogénine. L'échantillon officiel (# 27) traité avec le protocole retenu pour cette étude n'a révélé la présence d'aucun peptide ciblé d'AMELY ou d'AMELX. Les contraintes de temps et de budget ne nous ont pas permis de refaire le test sur une autre molaire. Également, refaire les manipulations sur la même molaire pourrait nous permettre d'accéder aux couches plus profondes de l'émail et peut-être nous permettre d'extraire les peptides dérivés de l'amélogénine pris au piège plus profondément dans la matrice minérale. En effet, il n'y avait peut-être tout simplement pas de composés organiques dans la couche supérieure de l'émail qui a subi l'abrasion.

La non-détection de peptides pourrait être due aux manipulations, bien que nous en doutions. En effet, nous avons produit l'échantillon #27 dans le dernier ensemble d'échantillons, ce qui signifie que les manipulations étaient bien maîtrisées à ce moment et le protocole bien défini (annexe # 18). C'est aussi le seul échantillon qui n'a livré aucun résultat pour la protéomique.

La non-détection de peptides pourrait également être due à la conservation ou à la contamination du matériel dentaire dans les sols. En observant les dents de l'individu 2A1, on peut apercevoir des taches brunâtres sur l'émail de toutes les dents permanentes de l'enfant (figure 32). S'agit-il d'un phénomène taphonomique ou d'une anomalie de l'émail? D'après Ortner (2019 : 762), une décoloration de l'émail ou des taches brunâtres pourraient indiquer une hypo-minéralisation de l'émail qui peut être causée par plusieurs pathologies dont des carences alimentaires. L'individu 2A1 présentait de l'émail hypoplasique sur ses canines et ses incisives, ce qui indique qu'il a subi des carences alimentaires durant la petite enfance (< 1 an) (Ethnoscop 2006; Kinaston et al. 2019). Son émail était probablement mal minéralisé. Cela a pu influencer la conservation de l'émail et la détection des peptides, l'amélogénine étant étroitement liée au processus de minéralisation (Kinaston et al. 2019; Mitsiadis et al. 2014).



Figure 32. Taches brunâtres couvrant l'émail des dents permanentes (dentition maxillaire gauche) de l'individu 2A1, Sainte-Marie de Beauce (photo : Jade Parent 2023).

En revanche, d'autres individus présentaient de l'hypoplasie de l'émail (en puits ou planaire) à différents degrés (Blaise Piette, 2023, communication personnelle). Ils ont tout de même livré des résultats pour la présence d'amélogénine. Le tableau suivant (tableau 28) met l'accent sur le nombre de peptides d'AMELX détectés pour ces individus juvéniles de sexe féminin. Malgré la présence d'une pathologie qui influencerait la minéralisation de la dent, entre un et six peptides d'AMELX ont été détectés pour les quelques individus analysés. Entre un et quatre de ces peptides font partie de la liste des biomarqueurs établie précédemment. Notons cependant que les dents de ces individus analysés pour la protéomique ne présentaient pas d'émail hypoplasique. La pathologie se trouvait donc sur les autres dents de ces enfants.

Tableau 28. Détection de peptides d'AMELX pour cinq petites filles du cimetière de Pointe-aux-Trembles présentant de l'émail hypoplasique.

Individus	Échantillon	Sexe	Présence d'hypoplasie de l'émail	Sévérité de la pathologie	Conservation	Nombre de peptides d'AMELX détectés	Nombre de biomarqueurs
7A2-S1	45	Confirmé : F → F	Hypoplasie en puits et planaire	Moyenne à sévère	Bonne	3	2
7A2-S22	44	Confirmé : F → F	Hypoplasie en puits	Moyenne à sévère	Bonne	6	4
7A2-S24	54	Confirmé : F → F	Hypoplasie en puits	Faible, sur 1 seule dent	Germe dentaire, brunâtre	1	1
7A9-S53	51	Attribué : ind. → F	Hypoplasie en puits	Faible, sur 1 seule dent	Brunâtre	2	2
7A9-S55	53	Attribué : ind. → F	Hypoplasie en puits	Moyenne	Brunâtre	2	2

Outre les pathologies, il pourrait s'agir de processus diagénétiques puisque le cimetière de Sainte-Marie se trouve dans une zone inondable près de la rivière Chaudière (Lessard 2022). La sépulture 2A1 était collée sur le mur est de l'église, au nord-ouest de la zone d'intervention (Ethnoscop 2006 : 44). Cependant, il y a peu d'informations concernant la conservation des protéines minéralisées dans les sols en contexte archéologique spécifiquement (Hendy 2021; Wadsworth et Buckley 2014; Poinar et Stankiewicz 1999). C'est-à-dire que les études consultées

mentionnent tous que les sols peuvent influencer la conservation et la contamination des échantillons, mais il semble que la question de la dégradation et de la conservation de la matière organique (minéralisée ou non) soit plutôt triviale dans les cas qui nous intéressent (Buonasera et al. 2020; Lugli et al. 2019; Parker et al. 2019; Porto et al. 2011; Gasparini et al. 2022; Wasinger et al. 2019). Il est mentionné que la dégradation et la diagénèse sont problématiques, mais que les protéines et, spécifiquement, celles provenant d'échantillons minéralisés sont moins sujettes à la contamination et à la dégradation que l'ADNa à cause des fortes liaisons chimiques entre les molécules biologiques et la matière minérale (Buonasera et al. 2020; Lugli et al. 2019; Parker et al. 2019; Porto et al. 2011; Gasparini et al. 2022; Wasinger et al. 2019). La conservation ou la dégradation des protéines sont affectées par le type d'environnement (tropical humide, aride, subarctique, tempéré, etc.) et les sols d'inhumation et aussi par la présence d'une matrice minérale à laquelle s'accrocher. Aussi l'ancienneté d'une protéine peut affecter sa fragmentation par des processus naturels comme la décomposition, la racémisation ou la désamination des acides aminés. La racémisation est quantifiable et on peut ainsi calculer l'âge d'un échantillon en mesurant ce qu'on pourrait appeler sa dégradation ou son vieillissement. Les processus taphonomiques peuvent influencer la vitesse à laquelle une protéine se dégrade (Hendy 2021; Wadsworth et Buckley 2014; Poinar et Stankiewicz 1999).

Somme toute, la crue des eaux et l'humidité des sols sont des agents taphonomiques qui agissent sur la dégradation des restes humains en général (Denys et Patou-Mathis 2014) et les inondations à Sainte-Marie de Beauce pourraient expliquer la mauvaise conservation de l'émail des dents et la faible détection des peptides dans certains cas. Si on compare la sépulture 2A1³ avec les autres sépultures de la même sous-opération (2A) et avec les sépultures des autres sous-opération (2B, 1C, 2E, 1G et 2G) dans le cimetière de Sainte-Marie de Beauce, on remarque que la taphonomie n'a pas affecté la conservation du matériel protéique de la même manière partout. En effet, on détecte plusieurs peptides dans certains échantillons et on en détecte peu dans d'autres (annexe # 16). En se servant du tableau 29 comme référence, on remarque que, dans les aires 2B, 2E et 2G, quelques individus sont masculins et nous avons donc détecté la présence de peptides d'AMELY (entre un et six peptides détectés) et d'AMELX (entre 1 et 12 peptides détectés).

³ L'identifiant d'un individu est composé du code de la sous-opération (2A, 2B, 1C, 2E, 1G ou 2G) qui correspond à l'emplacement de la sépulture lors de la fouille et d'un numéro qui correspond au numéro donné à la sépulture.

Dans ces sous-opérations, il y aussi des individus féminins pour lesquels nous n'avons détecté que la présence de peptides d'AMELX (entre un et neuf peptides détectés). Pour les aires 1C et 1G, entre trois et huit peptides d'AMELX ont été détectés pour les individus féminins. Puis, pour ce qui est de l'aire 2A, nous avons détecté entre un et six peptides d'AMELX pour les individus identifiés comme féminins.

Donc, puisque plusieurs peptides ont été détectés pour la plupart des individus indépendamment de leur emplacement, nous croyons que la conservation est similaire dans toutes les sous-opérations. Dans la sous-opération 2E, sauf pour l'individu 2E3 pour lequel un seul peptide a permis l'estimation du sexe, la conservation des peptides semble bonne. C'est aussi la sous-opération la plus éloignée de la rivière. La détection d'un seul peptide n'est peut-être pas due à la conservation dans ce cas précis. Dans la sous-opération 2A, la conservation des peptides semble bonne sauf pour l'individu 2A13 pour lequel un seul peptide a permis l'estimation du sexe et pour l'individu 2A1 qui n'a livré aucun résultat. La moitié des individus de cette sous-opération a donné de moins bons résultats de détection des peptides. En revanche, pour conclure que la mauvaise conservation due à la proximité des sépultures par rapport à la rivière est responsable de ces résultats, il faudrait analyser un plus grand nombre d'individus dans cette sous-opération. Donc pour la sous-opération 2A, la proximité de la rivière est peut-être responsable d'une moins bonne conservation et donc, d'une moins bonne détection, des peptides. Pour les autres sous-opérations, la détection des peptides ne semble pas liée à l'emplacement des sépultures dans le cimetière de Sainte-Marie de Beauce ou à la distance des sépultures par rapport à la rivière Chaudière. Cependant, cela n'empêche pas les sépultures d'avoir été affectées, d'une manière ou d'une autre par les inondations.

Tableau 29. *Commentaires sur la conservation du matériel biologique : détails de la détection des peptides d'AMELX et d'AMELY selon l'emplacement de la sépulture dans le cimetière de Sainte-Marie de Beauce (Ethnoscop 2006).*

Sous-opération	Emplacement	Distance de la rivière Chaudière (m)	Individus	Nombre de peptides d'AMELX	Nombre de peptides d'AMELY	Sexe estimé, protéomique
2A	Nord-ouest de la zone, collée au mur est de l'église	± 80 m	2A1	0	0	Ind.
			2A2	6	0	F
			2A13	1	0	F
			2A15	3	0	F

2B	Centre-sud de la zone, près de la rue Saint-Antoine	± 95 m	2B5	4	3	M
			2B7	1	1	M
			2B12	2	0	F
			2B14	2	0	F
			2B15	6	2	M
1C	Centre-nord de la zone	± 95 m	1C2	8	0	F
2E	Centre-est de la zone, dans la rue Saint-Antoine	± 100 m	2E2	2	0	F
			2E3	1	0	F
			2E4	2	0	F
			2E7	3	3	M
			2E8	6	3	M
			2E13	2	0	F
1G	Centre de la zone, mur est de l'église	± 90 m	1G2	3	0	F
			1G5	8	0	F
2G	Centre de la zone, éloigné du mur de l'église	± 90 m	2G4	12	6	M
			2G5	3	0	F
			2G6	2	0	F
			2G12	9	0	F

Pour en revenir à l'individu 2A1, qu'il s'agisse d'une pathologie ou non, nous croyons que les taches présentes sur l'émail pourraient avoir contribué à la contamination des protéines présentes dans l'émail. Aussi, des fissures dans l'émail des dents échantillonnées auraient possiblement permis à la dentine d'entrer en contact avec l'acide, ce qui aurait pu brouiller le signal de l'amélogénine lors de l'analyse au spectromètre de masse. Cependant, tel que détaillé dans l'annexe # 18, des échantillons ayant la même apparence (échantillons #11 et #55), ou encore, la couleur grisâtre (figure 33) de l'émail n'ayant pas achevé sa minéralisation (échantillons #9 et #46), ont tout de même permis d'identifier des individus masculins. Cela signifie que les peptides d'AMELY étaient bien conservés malgré l'apparence externe de la dent.



Figure 33. *Germes dentaires de premières molaires permanentes n'ayant pas achevé leur minéralisation, apparence normale. Individu 2E7, Sainte-Marie de Beauce, échantillon #9 (photo : Jade Parent 2023).*

Qu'un germe dentaire ou une dent immature ait été analysé ne devrait pas avoir d'incidence sur l'analyse protéomique, puisque l'émail dentaire se développe assez tôt dans la maturation des dents et est même présent sur les germes dentaires encore dans la mandibule chez un fœtus (Mitsiadis et al. 2014). D'ailleurs, Gowland et collègues (2021), ont estimé avec succès le sexe de 28 juvéniles, dont des périnataux, provenant de contextes anglais des I^{er} et II^e siècles et des XVIII^e et XIX^e siècles en prélevant l'amélogénine de dents déciduales et permanentes à divers stades de minéralisation (Gowland et al. 2021). Comme détaillé à l'annexe # 18, des germes dentaires ont été échantillonnés pour en extraire l'amélogénine pour 11 autres individus. Quatre de ces échantillons ont d'ailleurs permis de faire ressortir un sexe masculin avec la présence de peptides d'AMELY (échantillons #9, #11, #46 et #55). Les autres sont des individus féminins grâce à la présence de peptides d'AMELX. On a détecté chez deux individus la présence de trois peptides d'AMELX, chez trois autres (dont l'échantillon #36 abordé plus haut), la présence de deux peptides d'AMELX, et chez les deux derniers, la présence d'un seul peptide d'AMELX. Tous les peptides d'AMELX détectés dans ces échantillons se trouvent sur notre liste de biomarqueurs.

- Résultats de l'estimation du sexe attribués par la protéomique à partir de données ostéologiques manquantes

Pour compléter notre commentaire sur les résultats discordants, discutons des sept individus juvéniles pour lesquels nous n'avons pas d'estimation du sexe ostéologique (voir

annexe # 18). Un seul des sept individus parmi ceux sans estimation ostéologique s'est avéré être un garçon (7A9-S18). Les six autres individus se sont avérés être des filles. Comme il n'y a pas de résultats d'ADN pour ces individus, il est difficile de savoir si l'estimation du sexe avec la protéomique est correcte, comme c'est peut-être le cas avec l'individu 12W-S13 (échantillon #34) du cimetière Notre-Dame. En effet, l'ADN de cet individu le classe comme étant un individu masculin, mais la protéomique n'a pas relevé la présence de peptides d'AMELY et donc, dans le contexte de notre analyse, cet individu apparaît comme un individu féminin avec la protéomique. De plus, étant donné la forte significativité statistique de notre méthodologie, les résultats devraient être concluants.

Il se peut que, pour cet échantillon précis, ce soit l'analyse de l'ADN qui soit invalide. Plus précisément, il semblerait que les données concernant le sexe ne concordent pas toujours pour ce qui est du sexe entre l'ADN prélevé dans l'os temporal et celui prélevé dans les dents. Cela semble être un problème récurrent, spécifiquement pour le cimetière Notre-Dame et dans les sépultures où plusieurs individus étaient superposés (12W-S13 provient d'un tel contexte) (Arkéos 2008a : 134). Le prélèvement des os lors de la fouille étant complexe, il se peut que des os attribués à un individu en particulier ne lui aient pas appartenu (Diane Martin-Moya, 2023, communication personnelle). Les échantillons prélevés pour l'ADN et pour la protéomique pour l'individu 12W-S13 n'appartiennent peut-être tout simplement pas au même individu et cela pourrait expliquer la discordance entre les résultats pour ce dernier. Comme c'est le cas pour l'individu 12W-S13, il ne faut donc pas exclure la possibilité que les résultats soient inconsistants pour les autres individus de Notre-Dame pour les mêmes raisons.

De plus, modifier le seuil de détection des peptides pourrait potentiellement modifier l'estimation du sexe. Par souci d'homogénéité et afin de faciliter la lecture des données, nous avons établi des paramètres clairs pour la lecture des graphiques. Nous avons établi que la présence d'un peptide était confirmée par la présence d'un pic dans le graphique de l'intensité de l'action des ions sur l'échantillon et par la présence d'au moins trois ions différents produits par le clivage de la chaîne de peptide par l'action du MS. Parfois, le pic était représenté par un trait plus ou moins court ou un polygone difforme dans le graphique. Si le pic n'était pas accompagné de bandes de couleur montrant clairement la présence de trois ions, le peptide était considéré absent.

Afin de voir si un changement des paramètres affectait les résultats, nous avons fait l'exercice en faisant passer de trois à un le nombre minimal d'ions détectés. Avec ces nouveaux paramètres, il n'y a eu qu'un seul résultat différent. L'échantillon associé à l'individu 12W-S13 s'est vu attribuer un sexe masculin alors qu'avec les paramètres établis précédemment, l'individu était féminin. Il s'agit de la seule estimation du sexe qui a changé selon la modification des paramètres de détection et de lecture des graphiques. Tel que mentionné plus tôt, peut-être s'agit-il d'un de ces échantillons pour lesquels le signal des peptides était plutôt faible, et donc, le MS n'a pas bien détecté ces derniers.

Bien qu'il soit possible que, pour ces échantillons identifiés comme féminins, le signal d'AMELY soit trop faible pour être détecté, nous croyons que l'estimation du sexe est juste par la présence de peptides biomarqueurs ou diagnostics d'AMELX dans ces échantillons. En effet, les trois peptides biomarqueurs d'AMELX ont été détectés dans les échantillons #20 et 34, alors que deux de ces peptides ont été détectés dans les échantillons #35, 51 et 53, puis un seul peptide a été détecté dans l'échantillon #38. Cependant, comme avec les résultats discordants, les problèmes de détection des peptides avec l'appareil et la contamination ou la dégradation des échantillons demeurent possibles.

Pour certains individus (N = 4), un seul peptide a été détecté. Il s'agit des échantillons #24 (juvénile), 50 (adulte) et 54 (juvénile) dont le sexe féminin a été confirmé par la protéomique et de l'échantillon #38 (juvénile) dont le sexe féminin a été attribué par la protéomique. Bien qu'un seul peptide d'AMELX nous permettait d'arriver à de telles conclusions, le peptide détecté dans chacun des cas était un des biomarqueurs d'AMELX. Rappelons que les biomarqueurs sont les peptides d'AMELX et d'AMELY qui ont été détectés dans plus de 50% de nos échantillons. Nous les considérons comme étant « plus aptes » à permettre l'estimation du sexe. Pour huit individus, seulement deux peptides ont été détectés. Pour les échantillons #19, 22 (juvénile), 31 et 37, ceux-ci ont permis de confirmer le sexe féminin. Pour ce qui est des échantillons juvéniles #35, 51 et 53, les quelques peptides détectés ont permis d'attribuer un sexe féminin à ces individus autrement indéterminés. Puis, deux peptides ont modifié l'estimation du sexe de l'échantillon juvénile #36 comme discuté plus haut. Encore une fois, ces peptides, bien que peu nombreux pour chaque échantillon, faisaient partie de la liste de biomarqueurs et ont donc permis d'obtenir une estimation

du sexe que nous croyons juste. Les 17 autres individus identifiés comme féminins par l'absence de peptides d'AMELY ont été identifiés grâce à la présence de plus de deux peptides d'AMELX.

En d'autres mots, comme deuxième objectif de recherche, nous voulions répondre à cette question : cette méthode de protéomique s'avère-t-elle comparable en matière de fiabilité avec la paléogénétique et est-elle même plus fiable que les méthodes ostéologiques ? En comparant les résultats d'estimation du sexe par deux méthodologies et en calculant l'accord entre les résultats des deux méthodes, nous concluons qu'il y a un accord significatif. Il y a peu de résultats discordants dans notre échantillon et ceux-ci proviennent tous de juvéniles. Les résultats pour les adultes sont tous confirmés par la protéomique. Cela signifie que la méthode de protéomique est fiable pour estimer le sexe d'individus archéologiques. Elle permettrait donc de combler les lacunes au niveau de l'estimation du sexe chez les juvéniles, comme elle l'a fait dans notre échantillon.

5.1.1.2 Commentaires sur la mortalité : Une analyse démographique sommaire des nouvelles données

Au sujet de la mortalité, nous nous posons la question suivante : est-ce que le portrait démographique de notre échantillon pour chaque cimetière a changé suivant l'estimation du sexe avec la protéomique ?

Avec les analyses ostéologiques, on constate que pour notre échantillon, pour les adultes, il y a autant d'hommes que de femmes pour le cimetière de Sainte-Marie et presque autant d'individus des deux sexes pour le cimetière de Pointe-aux-Trembles et pour le cimetière de Notre-Dame. La proportion d'hommes et de femme est donc presque de 1 : 1. Avec la protéomique, le profil reste le même avec le même nombre d'individus puisque tous les résultats de l'estimation du sexe ont été confirmés par la protéomique.

Pour les juvéniles, avec les analyses ostéologiques, on constate qu'il y a un même nombre de filles, de garçons que d'individus de sexe indéterminé pour le cimetière de Notre-Dame, uniquement des filles et quelques individus indéterminés pour Pointe-aux-Trembles et une majorité de filles pour le cimetière de Sainte-Marie avec quelques individus indéterminés. Avec la

protéomique, il y a presque autant de filles que de garçons pour Notre-Dame. Ce profil reste sensiblement le même pour Pointe-aux-Trembles et Sainte-Marie, c'est-à-dire qu'il y a une majorité de filles dans les échantillons de ces deux cimetières, mais avec un nombre d'effectifs augmenté pour les deux sexes puisque les individus indéterminés se sont vu attribuer un sexe. En effet, il y a trois fois plus de filles que de garçons pour Pointe-aux-Trembles (6 F : 2 M) : ici, les individus masculins étaient absents de l'échantillon d'après les méthodes ostéologiques. Il y a également une majorité écrasante de filles pour Sainte-Marie (10 F : 1 M). Un seul individu reste indéterminé à la suite des analyses de protéomique. Les graphiques suivants (figures 34, 35, 36 et 37) mettent en évidence le nombre d'individus de chaque sexe selon les deux méthodes pour les individus adultes (nombre d'hommes vs nombre de femmes) et pour les juvéniles (nombre de garçons vs nombre de filles) pour l'entièreté de notre échantillon ainsi que pour tous les cimetières individuellement. L'annexe # 19 comprend les tableaux qui ont permis de réaliser ces graphiques.

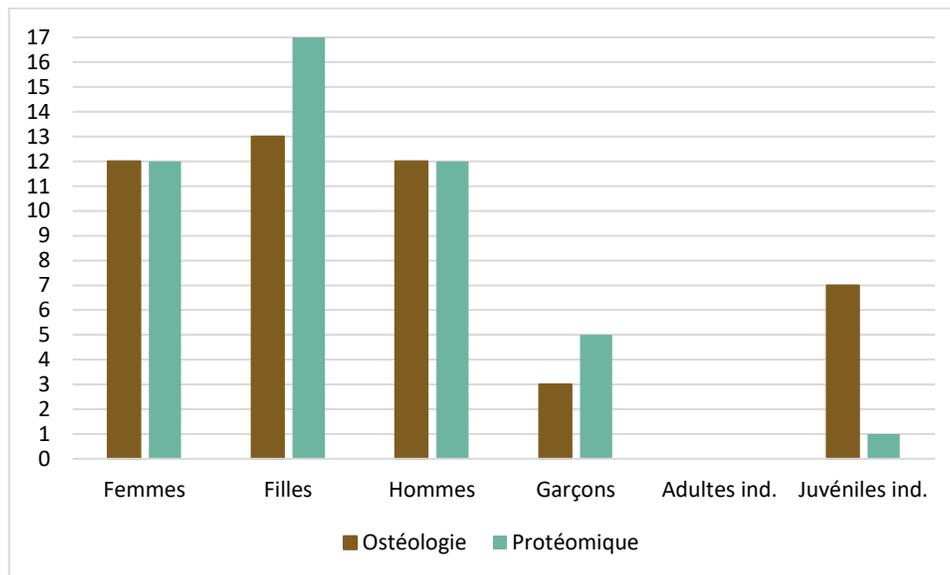


Figure 34. Nombre de femmes et de filles et nombre d'hommes et de garçons selon la méthode d'estimation du sexe pour tous les cimetières : portrait détaillé.

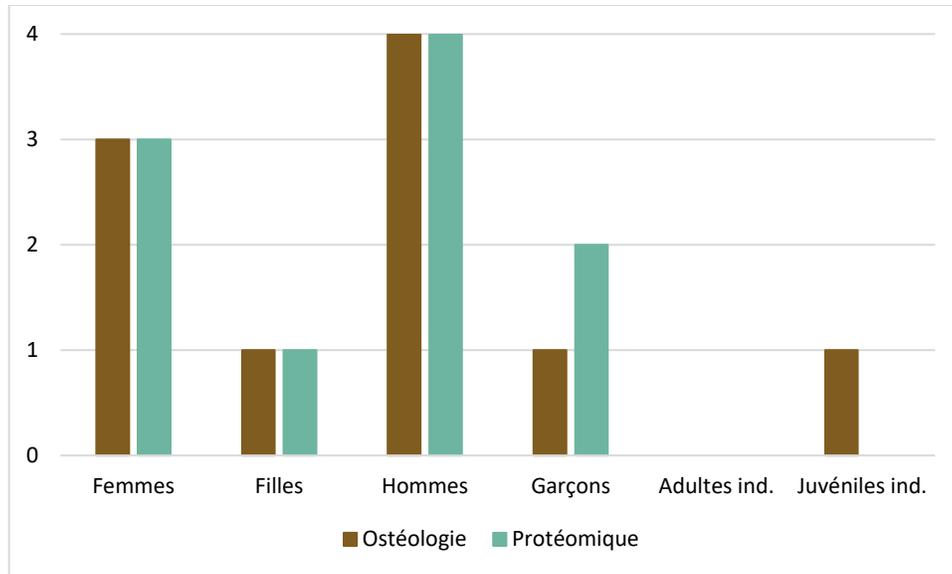


Figure 35. Nombre de femmes et de filles et nombre d'hommes et de garçons selon la méthode d'estimation du sexe pour le cimetière de Notre-Dame : portrait détaillé.

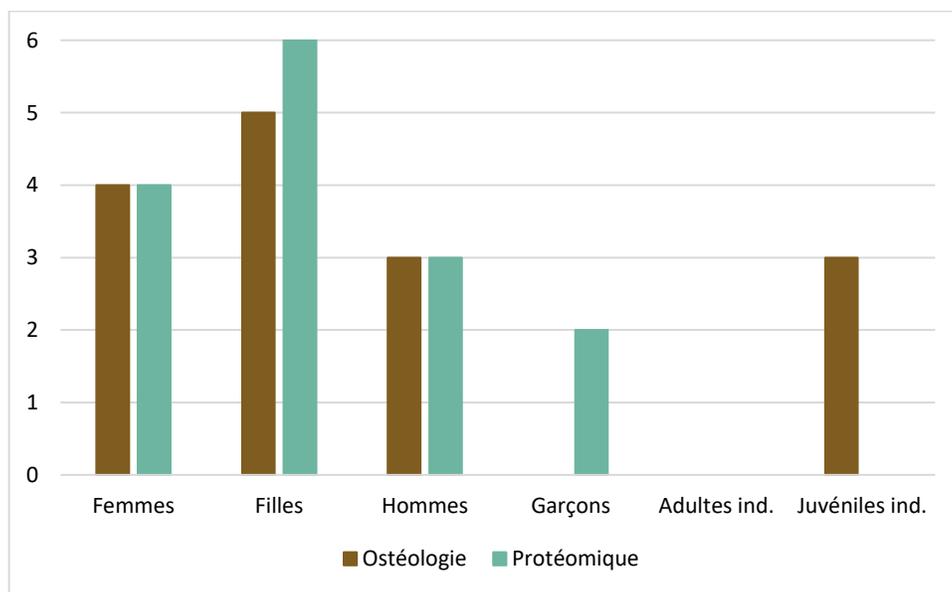


Figure 36. Nombre de femmes et de filles et nombre d'hommes et de garçons selon la méthode d'estimation du sexe pour le cimetière de Pointe-aux-Trembles : portrait détaillé.

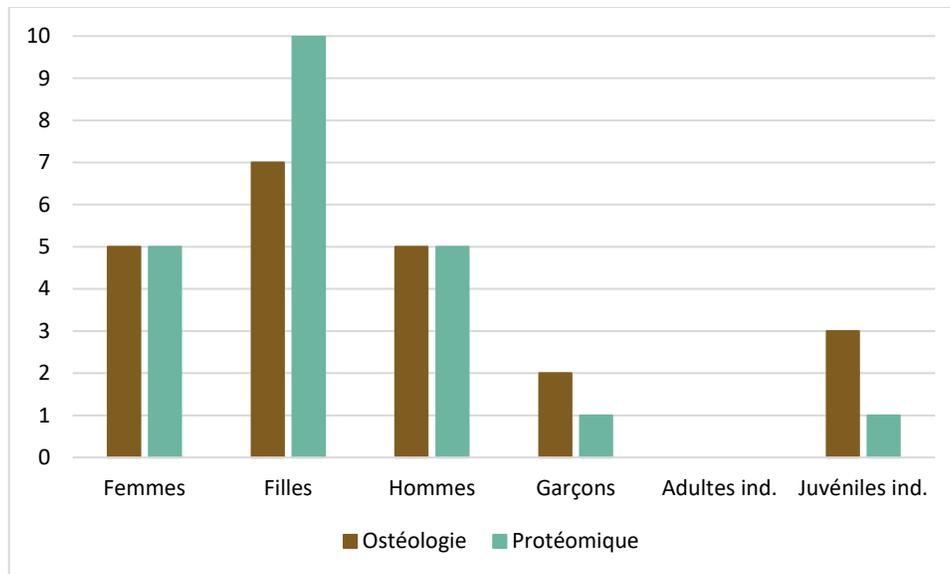


Figure 37. Nombre de femmes et de filles et nombre d'hommes et de garçons selon la méthode d'estimation du sexe pour le cimetière de Sainte-Marie de Beauce : portrait détaillé.

On constate que, dans notre échantillon, spécifiquement pour les cimetières de Pointe-aux-Trembles et de Sainte-Marie, il y a une majorité de filles. Si l'on en croit ces données, la mortalité infantile affecterait plus les filles que les garçons, ce qui va à l'encontre des données historiques et démographiques selon lesquelles les garçons décèdent en plus grand nombre en bas âge (Amorevieta-Gentil 2010). Nous émettons l'hypothèse que, la société de l'époque préférant se concentrer sur le bien-être de leurs garçons, ceux-ci étant les héritiers d'une famille, il est possible que la santé des petites filles ait été négligée en faveur de celle des garçons. Leur sevrage des filles aurait pu se faire plus tôt, une nourrice aurait pu délaissier sa fille afin d'allaiter un enfant de sexe masculin ou encore la nourriture post-sevrage aurait pu être de moins bonne qualité. Par exemple, la viande, une denrée rare, aurait pu servir à nourrir les garçons en priorité (Gutierrez 2018). Cependant, ce ne sont que des hypothèses puisque notre échantillon est très petit et n'est pas représentatif de la mortalité de l'époque. L'échantillonnage seul pourrait expliquer la surmortalité féminine en bas âge dans notre échantillon. Il faut donc rester prudents dans nos interprétations et se servir de ces nouvelles données comme base d'une étude plus large dans laquelle nous aurions un plus grand échantillon.

L'estimation du sexe à l'aide de la protéomique a permis de combler les lacunes des méthodes ostéologiques par l'apport non négligeable de nouvelles données. Cet apport de données

fait référence à la fois aux données du sexe attribuées et aux données du sexe modifiées (tableau 30). Pour le cimetière de Notre-Dame, les modifications aux résultats d'estimation du sexe ont affecté 20 % de l'échantillon. Pour le cimetière de Pointe-aux-Trembles, elles ont affecté 26,67 % de l'échantillon. Puis, pour le cimetière de Sainte-Marie, c'est 27,27 % de l'échantillon qui a été affecté par des changements grâce aux résultats de la protéomique (31,82 % si on inclut la donnée non concluante dans les données modifiées). L'estimation du sexe est passée de 90 % des individus sexés à 100 % pour Notre-Dame, de 80 % à 100 % pour Pointe-aux-Trembles et de 86 % à 95 % pour Sainte-Marie. Au regard des juvéniles, le pourcentage estimé est passé de 67,67 % à 100 % et de 62,5 % à 100 % pour Notre-Dame et Pointe-aux-Trembles respectivement et de 75 % à 91,67 % pour Sainte-Marie. Les ajouts ou les modifications ont permis d'inventorier la présence d'un garçon et d'une fille supplémentaires pour Notre-Dame, de deux garçons et de deux filles supplémentaires pour Pointe-aux-Trembles et d'un garçon et de cinq filles supplémentaires pour Sainte-Marie.

Il s'agit d'un apport de nouvelles données assez important. Nous ne pouvons qu'imaginer ce qu'un tel apport pourrait nous donner comme informations sur d'autres collections archéologiques dans le futur. Les lacunes au niveau de l'estimation du sexe pourraient également être comblées pour d'anciennes collections et ainsi, possiblement modifier les conclusions de certaines études quant à la mortalité reliée au sexe et à la mortalité infantile.

Tableau 30. *Détail de l'apport de données aux estimations initiales du sexe avec la protéomique.*

Cimetières	Pourcentage estimé (ostéologie)	Pourcentage estimé (protéomique)	Apport de données	Description	Pourcentage affecté par les modifications
Notre-Dame	90 %	100 %	1	1 donnée attribuée + 1 donnée modifiée	20 %
Pointe-aux-Trembles	80 %	100 %	3	3 données attribuées + 1 donnée modifiée	26,67 %
Sainte-Marie de Beauce	86,36 %	95,45 %	3	3 données attribuées + 3 données modifiées	27,27 %

Par exemple, nous pourrions comparer les données sur le sevrage chez les filles et les garçons décédés en bas âge (Gutierrez 2018). Nous pourrions ainsi évaluer si plus de filles ou de garçons étaient envoyés hors de la ville pour être allaités par une nourrice ou encore s'il y avait

une différence entre les sexes dans la durée de l'allaitement ou encore dans l'introduction de la nourriture solide à leur alimentation durant l'enfance (Gutierrez 2018). Gutierrez concluait que l'âge au sevrage était le même pour les garçons et les filles, mais que plus d'individus de sexe féminin n'avaient pas été allaités du tout. Pour ce qui est de la nourriture post-sevrage, elle notait un enrichissement supérieur en nutriments pour la nourriture donnée aux garçons (Gutierrez 2018). Nos échantillons respectifs n'avaient pas assez d'individus en commun pour croiser les données à ce stade. Cependant, parmi les individus en commun, il semblerait que, en effet, dans notre échantillon réduit, les individus de sexe féminin n'ayant pas été allaités soient plus nombreux que les individus de sexe masculin. Cette hypothèse mériterait d'être testée avec un échantillon plus grand et dans lequel le nombre de femmes et d'hommes est représentatif de la mortalité de l'époque.

Avec ces nouvelles données d'estimation du sexe, nous pourrions aussi voir s'il y a une variation dans la croissance des enfants selon le sexe et s'il y a un lien entre la croissance, le sevrage (ou l'alimentation en générale) et les pathologies relevant de carences alimentaires selon le sexe. Par exemple, avec de nouvelles données sur le sexe des juvéniles, nous pourrions voir si l'hypoplasie de l'émail affecte plus les petites filles ou les petits garçons et ainsi avoir un meilleur portrait de l'état de santé des enfants. Jusqu'à maintenant, l'échantillon utilisé par notre collègue (Blaise Piette, 2023, communication personnelle) pour l'analyse de l'hypoplasie de l'émail ne contenait que des filles. Nous ne pouvons donc pas faire de comparaisons de nos données à ce stade.

Nous pourrions aussi voir s'il y a une différence dans le sexe des migrants à Montréal (Vigeant 2012) et ainsi nous questionner sur les mouvements humains différents ou similaires entre les sexes. Trois individus se trouvaient à la fois dans notre échantillon et celui de Vigeant : il s'agit de deux hommes adultes (11D-S1 : > 40 ans, 4M1 : 30-35 ans) et d'un garçon (12C-S2 : 9-15 ans). Les trois avaient le même parcours de mobilité, c'est-à-dire qu'ils étaient nés et avaient passé leur enfance à un endroit riche en ^{18}O , puis avaient immigré à Montréal avant l'âge adulte. Vigeant (2012) stipule qu'il y a peu de différence de mobilité entre les sexes parmi les défunts du cimetière de Notre-Dame, mais le nombre d'individus dont le sexe avait été estimé est plutôt petit et ne permet pas d'interprétation poussée. En revanche, toutes les femmes décédées entre 18 et 40

ans de son échantillon étaient natives de Montréal, mais les échantillons dentaires représentant la période de l'enfance entre 7 et 16 ans indiquaient que, bien que nées à Montréal, ces femmes n'y demeuraient pas pendant cette période de leur enfance spécifiquement. D'ailleurs, 70% des adultes de son échantillon demeuraient à l'extérieur de la grande ville entre 7 et 16 ans (Vigeant 2012). Cependant, aucun juvénile n'avait été sexé. Croiser un éventail plus large de données permettrait de confirmer les similitudes des parcours de mobilité entre les sexes.

Nous pourrions aussi vérifier s'il y a effectivement une surmortalité des garçons par rapport aux filles en contexte euro-qubécois ancien (Amorevieta-Gentil 2010). Tout en rappelant la petitesse de notre échantillon, nous observons plutôt le contraire. En effet, pour les cimetières de Pointe-aux-Trembles et de Sainte-Marie, plus de sépultures semblent appartenir à des filles. Peut-être que l'échantillonnage est en cause pour ces résultats, mais, somme toute, explorer cette hypothèse avec un plus grand échantillon qui serait représentatif des cimetières à l'étude apporterait des résultats pertinents.

Pour ce qui est des adultes, nous pourrions obtenir une estimation du sexe auparavant indéterminée pour certains individus et ainsi constater si certaines données historiques sont vraies. Par exemple, nous pourrions déterminer si la mortalité est en effet plus élevée pour les femmes entre 20 et 40 ans (Lacroix et Desjardins 2013 ; Gagnon 2013 ; Charbonneau et Landry 1979 ; Charbonneau 2020 ; Balac 2009), entre autres à cause des grossesses successives et des dangers de l'accouchement (Charbonneau 1975 ; Lemieux 1985). Pour ce qui est de notre échantillon, le nombre de femmes et d'hommes de cette tranche d'âge est très similaire pour chacun des cimetières à l'étude : il y a un peu plus de femmes que d'hommes pour le cimetière de Pointe-aux-Trembles, mais la différence n'est pas significative. L'échantillonnage est fort probablement responsable de ces résultats non représentatifs. Pour la tranche d'âge des jeunes adultes, encore une fois, pour ce qui est de notre échantillon, il y a peu de différence de mortalité entre les sexes, il y a un peu plus de femmes que d'hommes, mais l'échantillonnage peut expliquer ces résultats. Nous pourrions aussi voir s'il est vrai que la mortalité des hommes est plus élevée chez les individus très âgés, ce qui signifie que les hommes vivaient généralement plus longtemps que les femmes (Lacroix et Desjardins 2013 ; Gagnon 2013 ; Charbonneau et Landry 1979 ;

Charbonneau 2020 ; 1975). Dans notre échantillon, il n'y a pas de différence marquée entre les sexes chez les adultes plus âgés et ils étaient généralement peu représentés dans notre échantillon.

De la même manière qu'avec les enfants, nous pourrions voir si des pathologies présentes chez les adultes et qui sont des indicateurs d'une mauvaise santé durant l'enfance affectent plus les femmes que les hommes. Par exemple, si les femmes ont plus d'hypoplasie de l'émail que les hommes, cela pourrait indiquer qu'elles avaient plus de stress alimentaire durant l'enfance. Nous pourrions donc faire le lien entre le sexe et l'allaitement ou le sevrage et le lien entre le sexe et les carences alimentaires. Selon les données archéologiques, l'hypoplasie de l'émail serait plus présente chez les femmes pour le cimetière de Notre-Dame (Arkéos 2008a) alors qu'elle affecterait plus les hommes pour le cimetière de Sainte-Marie (Ethnoscop 2006). Dans un même ordre d'idées, pour le cimetière de Saint-Antoine de Montréal, la carie dentaire semble affecter les femmes en plus grand nombre (Lara Douville, 2023, communication personnelle). Ajouter à cette recherche des données sur l'enfance pourrait livrer des résultats intéressants.

5.2 Limites de l'étude

L'estimation du sexe avec la protéomique est fiable et nous permet de répondre aux manques des méthodes traditionnelles, mais il ne s'agit pas d'une méthode parfaite. Cette section discutera donc brièvement des limites de la protéomique.

Tout d'abord, l'estimation du sexe avec la protéomique ne prend en compte qu'une seule configuration des chromosomes sexuels. Elle ne fait pas état de toute la variabilité humaine et reste basée sur un schéma binaire du sexe du point de vue chromosomique (Astorino 2019; Štrkalj et Pather 2021). En effet, la méthode prend en compte la présence ou l'absence de peptides codés par le chromosome Y. Et donc, un individu qui aurait une configuration autre que XX (femme) ou XY (homme), qui sont les configurations les plus fréquentes ou « ordinaires » des chromosomes sexuels ne serait pas pris en compte. En fait, il n'est pas possible de déceler ces variations. Quelques exemples de variations sont : XXY ou le syndrome de Klinefelter (Wikström et Dunkel 2011) et XYY ou le syndrome de Jacobs (Prabha Subhash et al. 2020) qu'on peut retrouver chez des hommes ainsi que XXX ou la trisomie X (Otter, Schrandner-Stumpel et Curfs 2010) qu'on peut retrouver chez des femmes. Ces syndromes sont plutôt rares et peu diagnostiqués et, mis à part

dans certains cas, des troubles de l'apprentissage et de l'infertilité, les personnes atteintes peuvent mener une vie normale (van Rijn et al. 2014). Mais comme la détermination du sexe avec la protéomique est une méthode qualitative basée sur la présence ou l'absence de Y et que ces syndromes n'affectent pas la détermination du sexe (s'il y a présence de Y c'est un individu de sexe masculin peu importe le nombre de Y), il n'est pas nécessaire de quantifier le nombre de chromosomes sexuels de chaque type. Nous tenions simplement à mentionner que ces syndromes existent.

Ce qui peut causer problèmes, cependant, c'est lorsque le génotype ne concorde pas avec le phénotype. La méthode de protéomique ne peut pas détecter la présence d'individus intersexués. Le contexte bioarchéologique dans lequel on ne retrouve que des os et des dents, ne nous permet pas de comparer l'apparence physique genrée (ex. l'habillement ou les organes sexuels) aux chaînes de peptides détectées. Par exemple, un individu qui aurait une configuration XY au niveau de son génome, mais qui aurait été assigné un sexe féminin à la naissance à cause de la présence d'organes génitaux féminins ou d'un phénotype femelle (Štrkalj et Pather 2021; Astorino 2019; Zieminska 2018; MacGillivray et Mazur 2005; Dreger et al. 2005; Deeb et al. 2005; Ono et Harley 2013; Rey et Grinspon 2011) apparaîtrait comme un homme dans notre échantillon. Il serait donc mal identifié. Comme toutes méthodes d'estimation du sexe basées sur la biologie, il faut rester conscients de la différence entre le sexe biologique et/ou génétique et le genre social. L'identité de genre des individus de leur vivant reste une information que, malheureusement, la méthode de protéomique ne nous donne pas. C'est pourquoi cette méthode ne détermine que la présence (ou l'absence) d'un chromosome Y, nous permettant de conclure que l'individu était de sexe masculin soit un homme ou un garçon.

Ensuite, il s'agit d'une méthode assez dispendieuse. Si l'extraction des protéines elle-même demande peu de matériel, les analyses au spectromètre de masse restent couteuses. En effet, l'accès à un appareil à la fine pointe de la technologie reste difficile et, à moins d'avoir une entente avec un laboratoire d'analyse biomoléculaire, il y a de nombreux frais liés à l'utilisation d'un tel appareil et à l'analyse subséquente des spectres de masse. Comme l'analyse des peptides de l'amélogénine est une analyse ciblée, elle reste cependant moins dispendieuse que les analyses d'ADN ancien. Les frais encourus dans le cadre de ce projet s'élèvent à environ 92 \$ en moyenne

par échantillon. Outre les coûts en argent, l'extraction des protéines demande également un investissement en temps. L'extraction demandait environ 1 h 30 à 2 h par molaire pour produire un échantillon liquide analysable. Cependant, il était possible de déminéraliser plusieurs échantillons en même temps et de garder l'acide contenant les peptides sur glace pendant la filtration d'un autre échantillon. Nous pouvions produire en moyenne une dizaine d'échantillons par jour (8 h).

Aussi, l'analyse des peptides requiert un spectromètre de masse de grande précision et qui peut prendre en charge de petits échantillons (4 μ L dans notre cas). Que l'analyse des peptides dérivés de l'amélogénine ne requière qu'un petit échantillon est une force de la méthode. Cependant, l'accès à un spectromètre de masse spécifique peut être difficile. Même avec un appareil de grande précision, il n'a pas été possible de détecter tous les peptides ciblés. En revanche, cela peut être dû autant à la sensibilité de l'appareil qu'à l'absence de certains peptides dans nos échantillons.

Finalement, malgré la fiabilité élevée de la méthode, nous croyons qu'une analyse sur un plus grand échantillon permettrait d'augmenter cette dernière encore plus. Également, la petitesse de notre échantillon pour chaque cimetière limite grandement l'interprétation paléodémographique. Estimer le sexe avec la protéomique sur la totalité des individus ambigus, juvéniles et dont le sexe n'a pas pu être estimé ostéologiquement pour les trois cimetières à l'étude permettrait d'avoir de meilleures interprétations en ce qui a trait à la mortalité reliée au sexe.

5.3 Futures avenues de recherche

Vu la petitesse de notre échantillon, la portée de nos résultats reste limitée. Cependant, l'apport de la protéomique au domaine de la bioarchéologie est non négligeable et propose des avenues intéressantes pour le futur de la discipline.

Non seulement l'estimation du sexe avec la protéomique permettrait de compléter le profil ostéologique lorsque la conservation des os est déficiente alors que celle des dents est bonne, permettant l'accès à des informations auparavant inaccessibles dans de tels contextes, mais permettrait aussi de combler les lacunes d'anciennes études. Le potentiel de la protéomique est

immense pour analyser la mortalité des juvéniles, ces oubliés des analyses bioarchéologiques et populationnelles, surtout en ce qui a trait au sexe. L'ajout des catégories « filles » et « garçons » constituerait une avancée significative pour analyser la mortalité infantile ainsi que la composition des cimetières.

Pour ce qui est de notre étude, plusieurs projets pourraient en découler. Tout d'abord, de nouveaux échantillons pourraient être refaits pour les individus ayant un résultat discordant, par exemple l'individu 2A1. Nous pourrions également refaire l'analyse en ciblant un éventail plus large de protéines autre que l'amélogénine ou faire une analyse non ciblée afin d'étudier la conservation du matériel biologique dans l'émail, ainsi que la diagenèse des échantillons archéologiques. Cela nous permettrait de comprendre pourquoi certaines molaires ne donnent pas de résultats, pourquoi on récolte ou non du matériel biologique dans l'émail et quel type de matériel biologique il est possible de récolter pour différentes dents (matures et immatures) ou encore dans des contextes différents (ancienneté des échantillons, type de sol, etc.). Pour l'individu 2A1, cela permettrait d'étudier la composition de l'émail, sa contamination ou sa pathologie et ainsi expliquer pourquoi celui-ci n'a pas livré de résultats pour la protéomique.

Ensuite, une nouvelle recherche sur un échantillon plus large pourrait aussi être menée en ciblant, encore une fois, l'amélogénine. Cette fois, nous pourrions tenter de détecter l'amélogénine dans des couches plus profondes de l'émail en procédant à plusieurs déminéralisations et extractions successives sur une même dent ou encore en gardant la dent dans l'acide plus longtemps. Nous avons effectué une deuxième abrasion de l'émail sur certains échantillons (# 11, 12, 22, 35 et 40), lorsqu'une première extraction n'a livré aucun résultat. Il a été possible de recueillir l'amélogénine après une seconde abrasion pour ces derniers, ce qui, selon nous, signifie qu'il faut parfois atteindre les couches plus profondes de l'émail pour mieux détecter le matériel biologique. Cependant, une mise en garde est à mentionner : procéder à une seule abrasion est une approche avantageuse, car minimalement destructive pour la dent, ce qui est préférable d'un point de vue méthodologique en archéologie. Bien que l'apparence de la dent à la suite d'une ou de deux abrasions à l'acide ne soit que blanchie ou légèrement crayeuse, un risque demeure que plusieurs abrasions successives endommagent fortement la dent. Pour atteindre les couches plus profondes de l'émail, appliquer la méthode sur des fragments déjà brisés d'émail pourrait être une solution.

Finally, besides sex estimation, several pieces of information can be gathered by analysing proteins in an archaeological context. We can mention zooarchaeological analyses with ZooMS (Giovas et LeFebvre 2018; Richter et al. 2022), the study of pathologies or diet by studying bacterial proteins in dental tartar (Warinner, Speller, et Collins 2015 ; Warinner et al. 2014 ; 2015 ; Hendy et al. 2018 ; Geber et al. 2019 ; Haigh et al. 2010) or even the study of diet with other organic compounds in bones or teeth like lipids (Irto et al. 2022). Proteomics is without a doubt a hot topic in the latest scientific advances of the last few years, and for the years to come in several fields and, in bioarchaeology, sex estimation is only at the beginning of this methodology (Hendy 2021).

5.4 Conclusion de la discussion

In conclusion, proteomics has provided data previously inaccessible in what concerns sex of juveniles. Such an advance is significant in the field of bioarchaeology since it would allow a better description of infant mortality and thus have a more complete portrait of these age groups. For our sample, we obtained surprising results. In fact, it would seem that infant mortality affected a larger number of girls than boys for the cemeteries of Sainte-Marie and of Pointe-aux-Trembles. A larger sampling would allow to clarify these results. In addition to providing interesting results, the extraction of proteins from dental enamel is done according to a simple protocol requiring little material and allowing to prepare several samples at once. No matter which laboratory is equipped with a refrigerator to store some chemical products necessary, a freezer to store the samples if there is a delay between extraction and analysis with a mass spectrometer and a chemical waste management protocol and biological one could serve for the demineralisation of enamel and the extraction of proteins. Moreover, teeth are a good material since they are well preserved in an archaeological context and the method remains possible if there are no bones to analyse, but only teeth.

Conclusion

En somme, cette étude à partir de 47 individus provenant des cimetières de Notre-Dame, Pointe-aux-Trembles et Sainte-Marie de Beauce a démontré qu'il est possible d'estimer le sexe en contexte bioarchéologique à partir de l'amélogénine, une protéine de l'émail des dents. Plus précisément, nous avons estimé avec succès le sexe de plusieurs individus juvéniles pour lesquels l'estimation du sexe était soit peu fiable à cause des méthodes ostéologiques inadéquates pour ce groupe d'âge ou encore indéterminées à cause, encore une fois, de l'immaturation des individus ou à cause de la conservation des restes osseux.

Nous avons trois objectifs dans le cadre de ce projet. Le premier était de déterminer le protocole le plus approprié pour extraire l'amélogénine. Pour ce faire, nous avons testé plusieurs variables soit le temps d'exposition de l'émail à l'acide (5 minutes ou 1 heure), la surface la plus adaptée à l'extraction des protéines (exposer la couronne d'une molaire ou un fragment d'émail à l'acide) et la séparation des composantes moléculaires en filtrant ou non l'échantillon liquide. Nous avons opté pour une abrasion minimale de 1 heure de l'émail de la couronne d'une molaire avec une solution de HCl suivie d'une filtration avec un ZipTip C18. Le deuxième était de déterminer si l'estimation du sexe avec les méthodes ostéologiques donnait des résultats concordants avec l'estimation du sexe avec la méthode de protéomique. Nous avons conclu que 85 % des individus avaient des résultats concordants. Les résultats discordants ou sans comparatif ostéologique provenaient tous de juvéniles. La protéomique a donc confirmé tous les résultats pour les adultes. Des tests du *kappa* de Cohen ont également confirmé que l'accord inter-méthodologique était parfait et hautement significatif pour les adultes et presque parfait et hautement significatif lorsque séparés par cimetière. L'accord était faible pour les juvéniles, mais cela est normal puisque les résultats ont été soit confirmés, attribués ou modifiés pour les juvéniles puisque les méthodes ostéologiques sont peu fiables au départ. Pour les quelques individus qui avaient été analysés au niveau de leur ADN, les résultats de la protéomique concordent avec ceux de l'ADN pour 7 individus sur 8. Le troisième était de discuter de l'apport de données fourni par la protéomique, afin de pouvoir revisiter les conclusions d'études précédentes sur la mortalité. Les nouvelles données fournies par la protéomique nous ont permis de sexer les juvéniles, ce qui

est une avancée non négligeable pour le domaine. Somme toute, l'estimation du sexe avec la protéomique est une méthode approuvée qui livre des résultats fiables et utiles.

Cette méthode comporte tout de même quelques limites. En effet, une certaine incertitude demeure toujours en ce qui concerne les individus identifiés comme des femmes ou des filles, car cette estimation du sexe se base sur l'absence des peptides qui définissent le sexe masculin. L'absence de ces peptides pourrait également être due à la sensibilité du spectromètre de masse, à la conservation des éléments biologiques ou encore à la contamination de l'émail par les sols, des pathologies ou la dentine sous-jacente. Cependant, la présence de peptides que nous avons établis comme « biomarqueurs » par la fréquence élevée de détection dans nos échantillons nous force à considérer que nos résultats sont plutôt fiables. La méthode de protéomique a l'avantage d'être simple, minimalement destructrice, d'être basée sur des éléments chromosomiques (découlant de l'ADN) et d'analyser des dents qui sont généralement bien conservées même dans des contextes archéologiques où la préservation est faible.

En terminant, cette étude alliant protéomique et bioarchéologie humaine aura permis de démontrer le potentiel d'appliquer la protéomique pour estimer le sexe principalement sur les individus juvéniles. Cette étude aura permis de confronter d'anciens et de nouveaux résultats, en vue de futures études sur la mortalité à plus grande échelle. Il serait intéressant de mener une étude semblable sur un échantillon plus grand afin de mieux décrire la mortalité infantile et selon le sexe. Notre échantillon comportait une majorité d'individus de sexe féminin, principalement chez les juvéniles pour les cimetières de Pointe-aux-Trembles et de Sainte-Marie de Beauce. Nous croyons qu'il serait important de vérifier ces résultats avec un échantillon plus grand et représentatif des cimetières étudiés afin de conclure sur la question de la surmortalité des filles par rapport aux garçons. Aussi, une étude sur la préservation du matériel biologique dans l'émail nous permettrait de mieux comprendre les contextes archéologiques. Puis, la protéomique offre de nombreuses avenues pour le futur des recherches bioarchéologiques, entre autres, par l'analyse des protéines présentes dans le tartre dentaire qui pourraient détenir de l'information sur l'alimentation et les pathologies bucco-dentaires (Hong et al. 2012; Buckley, Melton, et Montgomery 2013 ; Warinner et al. 2014, 2015 ; Mackie et al. 2017 ; Hendy et al. 2018 ; Geber et al. 2019 ; Haigh et al. 2010 ; Warinner, Speller, et Collins 2015 ; Jersie-Christensen et al. 2018).

Bibliographie

- Afonso, Cristina, Dominika Nociarova, Cristina Santos, Cristina Martinez-Labarga, Imma Mestres, Montserrat Duran, et Assumpció Malgosa. 2019. « Sex Selection in Late Iberian Infant Burials: Integrating Evidence from Morphological and Genetic Data ». *American Journal of Human Biology* 31 (1) : 1-10. <https://doi.org/10.1002/ajhb.23204>.
- Albert, A. Midori, et William R. Maples. 1995. « Stages of epiphyseal union for thoracic and lumbar vertebral centra as a method of age determination for teenage and young adult skeletons ». *Journal of Forensic Sciences* 40 (4) : 623-633.
- AlQahtani, Sakher J., Mark P. Hector, et Helen M. Liversidge. 2010. « Brief Communication: The London Atlas of Human Tooth Development and Eruption ». *American Journal of Physical Anthropology* 142 (3) : 481-490. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21258>.
- Amorevieta-Gentil, Marilyn. 2010. « Les niveaux et les facteurs déterminants de la mortalité infantile en Nouvelle-France et au début du Régime Anglais (1621-1779) ». Maîtrise, Montréal : Université de Montréal.
- Anonyme. 1920. *Église de Sainte-Marie-de-Beauce*. Photographie. Bibliothèque et Archives nationales du Québec. P748, S1, P2023. <https://numerique.banq.qc.ca/patrimoine/details/52327/3073443>.
- . 19-? *L'église, le presbytère et le couvent, Pointe-aux-Trembles*. Carte postale. Bibliothèque et Archives nationales du Québec. N° 0002631073. <https://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/4287>.
- Arboleda, Valerie A., Charmian A. Quigley, et Eric Vilain. 2016. « Genetic Basis of Gonadal and Genital Development ». *Endocrinology: Adult and Pediatric*, 2051-2085.e7. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-18907-1.00118-9>.
- Archéotec. 2012. « Séminaire de Saint-Sulpice (BjFj-018) et ancienne église Notre-Dame (BjFj-112). Opération 14 de BjFj-018 et opération 27 de BjFj-112 Place d'Armes. Inventaire archéologique été 2010. » Rapport de recherche. Montréal : Séminaire de Saint-Sulpice de Montréal, Ville de Montréal, MCC.

- Arkéos. 2006. « Interventions archéologiques réalisées dans le Vieux-Montréal (2004-2005) rue Saint-Jacques (MTL04-25-7), rue Saint-Sulpice (BjFj-112), rue d'Youville (BiFj-4), rue Saint-Paul Ouest (MTL05-25-1) ». Rapport de recherche. Montréal : Gaz Métro.
- . 2008a. « Interventions archéologiques dans les rues du Vieux-Montréal, 2000, 2001, 2002 et 2003. Rue Vaudreuil (MTL00-06-7), rue Saint-Jean-Baptiste (MTL01-06-7), la place d'Armes et ses abords (MTL01-06-22, MTL01-06-23 et BjFj-112), rue Saint-Alexis (MTL02-25-5), place d'Youville (BjFj-04) et rue McGill (BiFj-61) ». Rapport de recherche. Montréal : Ville de Montréal, MCC.
- . 2008b. « Interventions archéologiques sur le site de la première église Notre-Dame (BiFj-112), Vieux-Montréal ». Rapport de recherche. Montréal : Ville de Montréal, MCC.
- . 2010. « Inventaire et supervision archéologique en 2009 et 2010. Rue Saint-Sulpice (BjFj-112/BjFj-13), rue Saint-Paul Ouest (MTL09-25-2) et rues Saint-Jacques/ Saint-François-Xavier (MTL09-25-5) ». Rapport de recherche. Montréal : Gaz Métro.
- . 2013a. « Interventions archéologiques dans le cadre du projet de réaménagement de la place d'Armes et ses environs. Phase I et II, Montréal, 2009-2011 ». Rapport de recherche. Montréal : Ville de Montréal, MCC, Bell.
- . 2013b. « Interventions archéologiques dans les rues de Montréal 2008-2010. Dans le cadre du programme de réfection et de développement d'infrastructures d'aqueduc et d'égout incluant les travaux de voirie, pour le réseau artériel et local ainsi que le territoire de l'agglomération ». Rapport de recherche. Montréal : Ville de Montréal, MCC.
- Astorino, Claudia M. 2019. « Beyond Dimorphism: Sexual Polymorphism and Research Bias in Biological Anthropology ». *American Anthropologist* 121 (2) : 464-496. <https://doi.org/10.1111/aman.13224>.
- Baillargeon, Denyse. 2012. *Brève histoire des femmes au Québec*. Montréal : Boréal.
- Balac, Anne-Marie. 2009. *À la recherche des premiers Montréalais. Le cimetière de la première église Notre-Dame de Montréal*. Montréal : La fabrique de la paroisse Notre-Dame de Montréal, Mémoire et histoire.

- Bansal, AjayKumar, DeviCharan Shetty, Ruchi Bindal, et Aparna Pathak. 2012. « Amelogenin: A Novel Protein with Diverse Applications in Genetic and Molecular Profiling ». *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* 16 (3) : 395-399. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.102495>.
- Bevilacqua, Vicky L.H., Jennifer L. Powers, Dale L. Vogelien, Ralph J. Rascati, Michelle Hall, Kathleen Diehl, Connie Tran, Swapan S. Jain, et Reem Chabayta. 2002. « Collaboration between Chemistry and Biology to Introduce Spectroscopy, Electrophoresis, and Molecular Biology as Tools for Biochemistry. » *Journal of Chemical Education* 79 (11) : 1311.
- B.-Hardy, Marie-Hélène. 2015. « Étude de la diversité des populations historiques de Montréal et de Québec par l'analyse de la morphologie dentaire : Le cimetière catholique de la première église Notre-Dame (1691-1796) et le cimetière protestant Saint-Matthew de Québec (1771-1860) ». Maîtrise, Montréal : Université de Montréal.
- Bouchette, Joseph. 1815. *Town of Montreal with the rocks, shoals, soundings, &c. in the harbour, shewing also improvements, projected canal, squares &c.* Bibliothèque et Archives nationales du Québec. N° 0003836124. <https://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/2247030>.
- Boyer, Rodney F. 2000. *Modern Experimental Biochemistry (3rd Edition)*. Prentice Hall.
- . 2012. *Biochemistry Laboratory: Modern Theory and Techniques, 2nd Edition*. Pearson.
- Brickley, Megan, et Jacqueline I. McKinley. 2004. *Guidelines to the Standards for Recording Human Remains*. Southampton : BABAO, Departement of Archaeology, University of Southampton ; Institute of Field Archaeologists.
- Brooks, Sheilagh, et Judy Myers Suchey. 1990. « Skeletal age determination based on the os pubis: A comparison of the Acsadi-Nemeskéri and Suchey-Brooks methods. » *Human Evolution* 5 : 227-238.
- Bruzek, Jaroslav. 2002. « A Method for Visual Determination of Sex, Using the Human Hip Bone ». *American Journal of Physical Anthropology* 117 (2) : 157-168. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10012>.
- Buckley, Michael. 2019. *Paleogenomics: Genome-Scale Analysis of Ancient DNA*. New York : Springer

Science+Business Media.

Buckley, Michael, Nigel D. Melton, et Janet Montgomery. 2013. « Proteomics Analysis of Ancient Food Vessel Stitching Reveals >4000-Year-Old Milk Protein: Proteomics Analysis of Ancient Food Vessel Stitching ». *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 27 (4) : 531-538. <https://doi.org/10.1002/rcm.6481>.

Buikstra, Jane E., et Douglas H. Ubelaker. 1994. *Standards for data collection from human skeletal remains. Research series no. 44*. Fayetteville, Arkansas: Arkansas archeological survey research series n° 44.

Buonasera, Tammy, Jelmer Eerkens, Alida de Flamingh, Laurel Engbring, Julia Yip, Hongjie Li, Randall Haas, et al. 2020. « A Comparison of Proteomic, Genomic, and Osteological Methods of Archaeological Sex Estimation ». *Scientific Reports* 10 (1) : 11897. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68550-w>.

Buonasera, Tammy, Jelmer Eerkens, Brian Byrd, Laurel Engbring, Monica Arellano, Alan Leventhal, et Glendon Parker. 2022. « Sex-Biased Differences in Infant Mortality and Life Expectancy at at Sii Túupentak, an Ancestral Ohlone Village in Central California (ca. 540–145 Cal. BP) ». *Human Biology*, n° 200.

Byers, Steven N. 2009. *Introduction to Forensic Anthropology*. Routledge; 5e édition.

Campbell. 2012. *Biologie*. Édité par Reece, Urry, Cain, Wasserman, Minorsky, et Jackson. 4e édition. Montréal, Canada : ERPI.

Cardoso, Hugo F.V. 2008. « Sample-Specific (Universal) Metric Approaches for Determining the Sex of Immature Human Skeletal Remains Using Permanent Tooth Dimensions ». *Journal of Archaeological Science* 35 (1) : 158-168. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2007.02.013>.

Cardoso, Hugo F.V., et Shelley R. Saunders. 2008. « Two Arch Criteria of the Ilium for Sex Determination of Immature Skeletal Remains: A Test of Their Accuracy and an Assessment of Intra- and Inter-Observer Error ». *Forensic Science International* 178 (1) : 24-29. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.01.012>.

- Casas-Ferreira, Ana María, Miguel del Nogal-Sánchez, Ángel Esparza Arroyo, Javier Velasco Vázquez, et Jose Luís Pérez-Pavón. 2022. « Fast Methods Based on Mass Spectrometry for Peptide Identification. Application to Sex Determination of Human Remains in Tooth Enamel ». *Microchemical Journal* 181 (octobre) : 107-645. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107645>.
- Castiblanco, Gina A., Dorothea Rutishauser, Leopold L. Ilag, Stefania Martignon, Jaime E. Castellanos, et Wilson Mejía. 2015. « Identification of Proteins from Human Permanent Erupted Enamel ». *European Journal of Oral Sciences* 123 (6) : 390-395. <https://doi.org/10.1111/eos.12214>.
- Chamberlain, Andrew T. 2006. *Demography in Archaeology*. New York : Cambridge University Press.
- Charbonneau, Hubert. 1975. *Vie et mort de nos ancêtres. Étude démographique*. Démographie canadienne 3. Montréal : Les Presses de l'Université de Montréal.
- [éd]. 2020. *Naissance d'une population: les Français établis au Canada au XVIIe siècle*. [Aubervilliers : Nouvelle édition revue et Corrigée] : [Montréal, Québec : Ined Éditions, Les Presses de l'Université de Montréal].
- Charbonneau, Hubert, et Yves Landry. 1979. « La politique démographique en Nouvelle-France ». *Annales de démographie historique* 1979 (1) : 29-57. <https://doi.org/10.3406/adh.1979.1416>.
- Chaussegros de Léry, Gaspard-Joseph. 1717. *Plan de la ville de Montréal en Canada, Nouvelle France dans l'Amérique septentrionale*. Bibliothèque et Archives nationales du Québec. N° 0005973938. <https://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/3645163>.
- Cohen, Jacob. 1960. « A Coefficient of Agreement for Nominal Scales ». *Educational and Psychological Measurement* 20 (1) : 37-46.
- Cornellier, Manon. 2011. « Comment l'exemple des cimetières-jardins interprète la mémoire funéraire québécoise ». *Conserveries mémorielles*, n° 10.
- Courville, Serge. 1996. *Population et territoire*. Atlas historique du Québec. Sainte-Foy : Presses de l'Université Laval.

- Courville, Serge, et Normand Séguin [éd]. 2001. *La paroisse*. Atlas historique du Québec. Saint-Foy : Presses de l'Université Laval : Fonds Gérard-Dion.
- Craig-Atkins, Elizabeth, Jacqueline Towers, et Julia Beaumont. 2018. « The Role of Infant Life Histories in the Construction of Identities in Death: An Incremental Isotope Study of Dietary and Physiological Status among Children Afforded Differential Burial ». *American Journal of Physical Anthropology* 167 (3) : 644-655. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23691>.
- Crépin, Magali. 2017. « Étude de « marqueurs d'activités » au sein de deux populations historiques de la Vallée du Saint Laurent : Analyses des observations macroscopiques et essais d'interprétations en lien avec des milieux contrastés (urbain versus rural) ». Maîtrise, Montréal : Université de Montréal.
- Deeb, Asma, Clinton Mason, Yung Seng Lee and Ieuan A. Hughes. 2005. « Correlation between genotype, phenotype and sex of rearing in 111 patients with partial androgen insensitivity syndrome ». *Clinical Endocrinology* 63 : 56-62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02298.x>
- Dechêne, Louise. 1974. « Chapitre III Les traits démographiques ». *Habitants et marchands de Montréal au XVIIe siècle*, 98-122. Civilisations et mentalités. Paris et Montréal : Plon.
- Demarchi, Beatrice, Shaun Hall, Teresa Roncal-Herrero, Colin L Freeman, Jos Woolley, Molly K Crisp, Julie Wilson, et al. 2016. « Protein Sequences Bound to Mineral Surfaces Persist into Deep Time ». *ELife* 5 (septembre) : e17092. <https://doi.org/10.7554/eLife.17092>.
- Denys, Christiane, et Marylène Patou-Mathis [éd]. 2014. *Manuel de taphonomie*. Archéologiques. Arles : Errance.
- Desjardins, Pierre. 2009. *La mort au fil des ans ou l'histoire des cimetières pointeliens*. L'Atelier d'histoire de la Pointe-aux-Trembles.
- . 2015. *Le Vieux Pointe-aux-Trembles sous la truelle et le tamis. Quatre décennies de fouilles archéologiques*. L'Atelier d'histoire de la Pointe-aux-Trembles.
- DiPietro, Janet, et Kristin Voegtline. 2017. « The Gestational Foundation of Sex Differences in

- Development and Vulnerability ». *Neuroscience* 342 : 4-20.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.068>.
- Doerr, Allison. 2013. « Mass Spectrometry–Based Targeted Proteomics ». *Nature Methods* 10 (1) : 23.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.2286>.
- D’Ortenzio, Lori, Isabelle Ribot, Emeline Raguin, Annabelle Schattmann, Benoit Bertrand, Bonnie Kahlon, et Megan Brickley. 2016. « The Rachitic Tooth: A Histological Examination ». *Journal of Archaeological Science* 74 (octobre) : 152-163. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2016.06.006>.
- Dreger, Alice D., Cheryl Chase, Aron Sousa, Philip A. Gruppuso et Joel Frader. 2005. « Changing the Nomenclature/Taxonomy for Intersex: A Scientific and Clinical Rationale ». *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism* 18 (8) : 729-733.
- Drevenstedt, Greg L., Eileen M. Crimmins, Sarinnapha Vasunilashorn, et Caleb E. Finch. 2008. « The rise and fall of excess male infant mortality ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (13) : 5016–5021. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800221105>.
- Dubois Berthelot de Beausecours, Josué. 1714. *Plan de la ville de Montréal en Canada levé en l’année 1713 et enceinte a Este rectifiée*. Montréal : British Library.
<https://collections.leventhalmap.org/search/commonwealth:hx11z594r>.
- Edward, William. 18-?. *Village of Pointe aux Trembles*. Bibliothèque et Archives nationales du Québec, P318, S8, P47. <https://numerique.banq.qc.ca/patrimoine/details/52327/3287644>.
- Engelhardt, Heinz, et Hartmut Müller. 1984. « Optimal Conditions for the Reversed-Phase Chromatography of Proteins ». *Chromatographia* 19 (1) : 77-84. <https://doi.org/10.1007/BF02687722>.
- Ethnoscop. 2006. « Site du premier cimetière de Ste-Marie, CcEs-1. Inventaire et fouilles archéologiques 2003-2004. » Rapport de recherche. Québec : Ministère des Transports.
- . 2013. « Interventions archéologiques effectuées en 2009 et en 2010 dans le cadre de la conception d’une place publique au sein du Vieux-Pointe-aux-Trembles, BjFi-16 et BjFi-17. » Rapport de recherche. Montréal : Ville de Montréal.

- . 2015. « Interventions archéologiques dans le cadre du projet de construction de la Maison du citoyen à Pointe-aux-Trembles, 2014, BjFi-17 ». Rapport de recherche. Montréal : Ville de Montréal.
- . 2018. « Interventions archéologiques dans le cadre de la phase III de l'aménagement du site de la Maison du citoyen, Vieux-Pointe-aux-Trembles (BjFi-17), été-automne 2016 et printemps 2017 ». Rapport de recherche. Montréal : Ville de Montréal.
- Férey, Nicolas, Guillaume Bouyer, Christine Martin, Abdelhamid Drif, Patrick Bourdot, Mehdi Ammi, Julien Nelson, Jean-Marie Burkhart, et Ludovic Autin. 2009. « Docking de protéines en réalité virtuelle. Une approche hybride et multimodale ». *Techniques et sciences informatiques* 28 (8) : 983-1015. <https://doi.org/10.3166/tsi.28.983-1015>.
- Ferron, Madeleine. 1974. *Les Beaucerons ces insoumis*. Montréal : Éditions Hurtubise HMH Ltée.
- Froment, Carine, Mathilde Hourset, Nancy Sáenz-Oyhéréguay, Emmanuelle Mouton-Barbosa, Claire Willmann, Clément Zanolli, Rémi Esclassan, et al. 2020. « Analysis of 5000 Year-Old Human Teeth Using Optimized Large-Scale and Targeted Proteomics Approaches for Detection of Sex-Specific Peptides ». *Journal of Proteomics* 211 (janvier) : 103-548. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103548>.
- Gadoury, Lorraine, Yves Landry, et Hubert Charbonneau. 1985. « Démographie différentielle en Nouvelle-France : villes et campagnes ». *Revue d'histoire de l'Amérique française* 38 (3) : 357-378. <https://doi.org/10.7202/304283ar>.
- Gagnon, Alain. 2013. « Crises and Trends: Mortality in Historical Perspective ». *Canadian Studies in Population* 39 (3-4) : 1-8. <https://doi.org/10.25336/P6T61W>.
- Gagnon, Alain, et Ryan Mazan. 2009. « Does Exposure to Infectious Diseases in Infancy Affect Old-Age Mortality? Evidence from a Pre-Industrial Population ». *Social Science & Medicine* 68 (9) : 1609-1616. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2009.02.008>.
- Gasparini, Anthony, Federico Lugli, Sara Silvestrini, Annalisa Pietrobelli, Isabella Marchetta, Stefano

- Benazzi, et Maria Giovanna Belcastro. 2022. « Biological Sex VS. Archaeological Gender: Enamel Peptide Analysis of the Horsemen of the Early Middle Age Necropolises of Campochiaro (Molise, Italy) ». *Journal of Archaeological Science: Reports* 41 (février) : 103337. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2021.103337>.
- Geber, Jonny, Monica Tromp, Ashley Scott, Abigail Bouwman, Paolo Nanni, Jonas Grossmann, Jessica Hendy, et Christina Warinner. 2019. « Relief Food Subsistence Revealed by Microparticle and Proteomic Analyses of Dental Calculus from Victims of the Great Irish Famine ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116 (39) : 19380-19385. <https://doi.org/10.1073/pnas.1908839116>.
- Gil-Bona, Ana, et Felicitas B. Bidlack. 2020. « Tooth Enamel and Its Dynamic Protein Matrix ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (12) : 4458. <https://doi.org/10.3390/ijms21124458>.
- Giovas, Christina M., et Michelle J. LeFebvre [éd]. 2018. *Zooarchaeology in Practice*. Cham : Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-64763-0>.
- Goad, Charles. E. 1907. *Montreal Island and Vicinity. Planche 641*. Bibliothèque et Archives nationales du Québec. P600, S4, SS1, D68. https://numerique.banq.qc.ca/patrimoine/details/52327/3121050?docref=bZJ6kzF10sjU_glXudSvrQ.
- . 1912. *Ste Marie de Beauce, Quebec*. Bibliothèque et Archives nationales du Québec, N° 0003030551. <https://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/2246804>.
- Gowland, Rebecca, Nicolas A. Stewart, Kayla D. Crowder, Claire Hodson, Heidi Shaw, Kurt J. Gron, et Janet Montgomery. 2021. « Sex Estimation of Teeth at Different Developmental Stages Using Dimorphic Enamel Peptide Analysis ». *American Journal of Physical Anthropology* 174 (4) : 859-869. <https://doi.org/10.1002/ajpa.24231>.
- Grondin, François. 2010. « Inventaire des cimetières effacés associés aux lieux de culte du territoire de l'île de Montréal ». Rapport de recherche. Montréal : MCC.
- Gunning, Peter William. 2006. « Protein Isoforms and Isozymes ». *ELS*, édité par John Wiley & Sons, Ltd, 1^{re} édition. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0005717>.

- Gutierrez, Eléa. 2018. « Évolution des pratiques du sevrage à Montréal (XVIIe – XIXe siècles) : analyse isotopique des concentrations en azote 15 par micro-échantillonnage de la dentine ». Maîtrise, Montréal : Université de Montréal.
- Haas, Randall, James Watson, Tammy Buonasera, John Southon, Jennifer C. Chen, Sarah Noe, Kevin Smith, Carlos Viviano Llave, Jelmer Eerkens, et Glendon Parker. 2020. « Female Hunters of the Early Americas ». *Science Advances* 6 (45) : eabd0310. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd0310>.
- Haigh, Brendan J., Kevin W. Stewart, John R. K. Whelan, Matthew P.G. Barnett, Grant A. Smolenski, et Thomas T. Wheeler. 2010. « Alterations in the Salivary Proteome Associated with Periodontitis ». *Journal of Clinical Periodontology* 37 (3) : 241-247. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01525.x>.
- Harding, Tommy, Emmanuel Milot, Claudia Moreau, Jean-Francois Lefebvre, Jean-Sébastien Bournival, Hélène Vézina, Catherine Laprise, et al. 2020. « Historical Human Remains Identification through Maternal and Paternal Genetic Signatures in a Founder Population with Extensive Genealogical Record ». *American Journal of Physical Anthropology* 171 (4) : 645-658. <https://doi.org/10.1002/ajpa.24024>.
- Hayes, Andrew F., et Klaus Krippendorff. 2007. « Answering the Call for a Standard Reliability Measure for Coding Data ». *Communication Methods and Measures* 1 (1) : 77-89. <https://doi.org/10.1080/19312450709336664>.
- Hendy, Jessica. 2021. « Ancient Protein Analysis in Archaeology ». *Science Advances* 7 (3) : eabb9314. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb9314>.
- Hendy, Jessica, Christina Warinner, Abigail Bouwman, Matthew J. Collins, Sarah Fiddyment, Roman Fischer, Richard Hagan, et al. 2018. « Proteomic Evidence of Dietary Sources in Ancient Dental Calculus ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 285 (1883) : 20180977. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0977>.
- Hillson, Simon. 1986. *Teeth*. Cambridge : Cambridge University Press.

———. 1996. *Dental Anthropology*. Cambridge : Cambridge University Press.

Hong, Chuan, Hongen Jiang, Enguo Lü, Yunfei Wu, Lihai Guo, Yongming Xie, Changsui Wang, et Yimin Yang. 2012. « Identification of Milk Component in Ancient Food Residue by Proteomics ». Édité par Dorian Q. Fuller. *PLoS ONE* 7 (5) : e37053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037053>.

Hopkins, Henry Whitmer. 1879. *Atlas of the city and island of Montreal, including the counties of Jacques Cartier and Hochelaga from actual surveys based upon the cadastral plans deposited in the office of the Department of Crown Lands*. Bibliothèque et Archives nationales du Québec, N° 0000174244. <https://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/2244120>.

Hoppa, Robert D. 1992. « Evaluating Human Skeletal Growth: An Anglo-Saxon Example ». *International Journal of Osteoarchaeology* 2 (4) : 275-288. <https://doi.org/10.1002/oa.1390020403>.

Humphrey, Louise, Silvia Bello, et Emily Rousham. 2012. « Sex Differences in Infant Mortality in Spitafields, London, 1750-1839 ». *Journal of Biosocial Science* 44 (1) : 95-119. <https://doi.org/10.1017/S0021932011000484>.

Irto, Anna, Giuseppe Micalizzi, Clemente Bretti, Valentina Chiaia, Luigi Mondello, et Paola Cardiano. 2022. « Lipids in Archaeological Pottery: A Review on Their Sampling and Extraction Techniques ». *Molecules* 27 (11) : 1-23. <https://doi.org/10.3390/molecules27113451>.

Jersie-Christensen, Rosa R., Liam T. Lanigan, David Lyon, Meaghan Mackie, Daniel Belstrøm, Christian D. Kelstrup, Anna K. Fotakis, et al. 2018. « Quantitative Metaproteomics of Medieval Dental Calculus Reveals Individual Oral Health Status ». *Nature Communications* 9 (1) : 4744. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07148-3>.

Karpievitch, Yuliya V., Ashoka D. Polpitiya, Gordon A. Anderson, Richard D. Smith, et Alan R. Dabney. 2010. « Liquid Chromatography Mass Spectrometry-Based Proteomics: Biological and Technological Aspects ». *The Annals of Applied Statistics* 4 (4) : 1797-1823. <https://doi.org/10.1214/10-AOAS341>.

Katzenberg, Anne. 2008. « Stable Isotope Analysis: A Tool for Studying Past Diet, Demography, and Life History ». *Biological Anthropology of the Human Skeleton, Second Edition*, édité par Anne

- Katzenberg et Shelley R. Saunders, 411-441. John Wiley & Sons, Inc.
- Katzenberg, Mary Anne, et Shelley Rae Saunders [éd]. 2007. *Biological Anthropology of the Human Skeleton*. 2e édition. Hoboken, N.J : John Wiley & Sons.
- Kaupová, Sylva Drtikolová, Jaroslav Brůžek, Jiří Hadrava, Ivan Mikšík, Marine Morvan, Lumír Poláček, Lenka Půtová, et Petr Velemínský. 2022. «Early Life Histories of Great Moravian Children – Carbon and Nitrogen Isotopic Analysis of Dentine Serial Sections from the Early Medieval Population of Mikulčice (9th-10th Centuries AD, Czechia)». Preprint, 1-32. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1913554/v1>.
- Kimsis, Janis, Elina Petersone-Gordina, Alise Poksane, Antonija Vilcāne, Joanna Moore, Guntis Gerhards, et Renate Ranka. 2022. «Application of Natural Sciences Methodology in Archaeological Study of Iron Age Burials in Latvia: Pilot Study». *Forensic Science, Medicine and Pathology*, novembre. <https://doi.org/10.1007/s12024-022-00553-7>.
- Kinaston, Rebecca, Anna Willis, Justyna J. Miskiewicz, Monica Tromp, et Marc F. Oxenham. 2019. «The Dentition». *Ortner's Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains*, 749-797. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809738-0.00021-1>.
- Krippendorff, Klaus. 2013. *Content Analysis, An Introduction to its Methodology*. Troisième édition. États-Unis : SAGE Publications Inc.
- Kroupa, Bohuslav. s.d. *Montréal, île de Montréal - Église Notre-Dame - Ancienne église*. Gravure. Bibliothèque et Archives nationales du Québec, E6, S8, SS1, SSS661, D3928. <https://numerique.banq.qc.ca/patrimoine/details/52327/3067089>.
- L'Abbé Provost, Honorius. 1967. *Sainte-Marie de la Nouvelle-Beauce. Histoire religieuse*. Québec : La société historique de la Chaudière.
- Lacroix, Claudine, et Bertrand Desjardins. 2013. «Adult Mortality in Preindustrial Quebec». *Canadian Studies in Population* 39 (3-4) : 23-33. <https://doi.org/10.25336/P6JP5R>.
- Laflamme, Simon, et Zhou Run-Min. 2020. *Méthodes statistiques en sciences humaines*. 2e édition.

Cognitio. Sudbury : Prise de parole.

Lemieux, Denise. 1985. *Les petits innocents. L'enfance en Nouvelle-France*. Institut québécois de recherche sur la culture.

Lessard, Rénaud. 2022. « [En images] Les terribles inondations de 1917 en Beauce ». *Le journal de Québec*, 3 avril 2022, [En ligne]. https://www.journaldequebec.com/2022/04/03/en-images-les-terribles-inondations-de-1917-en-beauce?fbclid=IwAR0z9SvxKtd6IXDb_OTzILKtwG_0w0QxiOH3hhMfomAcfchM4na2PUImB5c.

Lovejoy, C. Owen. 1985. « Dental Wear in the Libben Population: Its Functional Pattern and Role in the Determination of Adult Skeletal Age at Death ». *American Journal of Physical Anthropology* 68 (1) : 47-56. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330680105>.

Lugli, Federico, Giulia Di Rocco, Antonino Vazzana, Filippo Genovese, Diego Pinetti, Elisabetta Cilli, Maria Cristina Carile, et al. 2019. « Enamel Peptides Reveal the Sex of the Late Antique ‘Lovers of Modena’ ». *Scientific Reports* 9 (1) : 13130. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49562-7>.

Lugli, Federico, Carla Figus, Sara Silvestrini, Valentina Costa, Eugenio Bortolini, Sara Conti, Beatrice Peripoli, et al. 2020. « Sex-Related Morbidity and Mortality in Non-Adult Individuals from the Early Medieval Site of Valdarò (Italy): The Contribution of Dental Enamel Peptide Analysis ». *Journal of Archaeological Science: Reports* 34 (décembre) : 102 625. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2020.102625>.

Lynnerup, Niels, et Haagen D. Klaus. 2019. « Fundamentals of Human Bone and Dental Biology ». *Ortner's Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains*, 35-58. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809738-0.00004-1>.

MacGillivray, Margaret H. et Tom Mazur. 2005. « Chapter 13 – Intersex ». *Advances in Pediatrics* 52 : 295-319. <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2005.04.004>

Mackie, Meaghan, Jessica Hendy, Abigail D. Lowe, Alessandra Sperduti, Malin Holst, Matthew J. Collins, et Camilla F. Speller. 2017. « Preservation of the Metaproteome: Variability of Protein Preservation in Ancient Dental Calculus ». *STAR: Science & Technology of Archaeological Research* 3 (1) :

- 58-70. <https://doi.org/10.1080/20548923.2017.1361629>.
- Maresh, M.M. 1970. *Human Growth and Development*. Springfield, IL : C.C. Thomas.
- Marx, Vivien. 2013. « Targeted Proteomics ». *Nature Methods* 10 (1) : 19-22. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2285>.
- Mays, Simon. 2021. *The Archaeology of Human Bones*. Troisième édition. New York : Routledge.
- Millipore Sigma. 2021. « ZipTip with 0.6 µL C18 resin ». Millipore Sigma. 2021. https://www.emdmillipore.com/CA/en/product/ZipTip-with-0.6-L-C18-resin,MM_NF-ZTC18S008#anchor_TI.
- Missihoun, Tagnon. 2020. « Biochimie expérimentale I (BCM1004) ». Université du Québec à Trois-Rivières.
- Mitsiadis, Thimios A., Anna Filatova, Gianpaolo Papaccio, Michel Goldberg, Imad About, et Petros Papagerakis. 2014. « Distribution of the Amelogenin Protein in Developing, Injured and Carious Human Teeth ». *Frontiers in Physiology* 5 (décembre) : 1-8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00477>.
- Molleson, Theya, et Margaret Cox. 1993. « The Spitalfields Project: The Anthropology The Middling Sort, Vol. 2 ». Council for British Archaeology.
- Multari, Dylan. 2019. « Development of a Novel Sample Preparation Method for Bioarchaeological Proteomics ». Maîtrise, Sydney, Australie : Macquarie University.
- Murail, Pascal, Jaroslav Bruzek, Francis Houët, et Eugénia Cunha. 2005. « DSP: A Tool for Probabilistic Sex Diagnosis Using Worldwide Variability in Hip-Bone Measurements ». *Bulletins et Mémoires de La Société d'anthropologie de Paris* 17 (3-4): 167-176. <https://doi.org/10.4000/bmsap.1157>.
- Nanci, Antonio. 2017. *Ten Cate's Oral Histology. Development, Structure, and Function*. 9e édition. Elsevier.

- Newton, Russell P., A.Gareth Brenton, Chris J. Smith, et Edward Dudley. 2004. « Plant Proteome Analysis by Mass Spectrometry: Principles, Problems, Pitfalls and Recent Developments ». *Phytochemistry* 65 (11) : 1449-1485. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.015>.
- Nguiagain-Launière, Bénédicte. 2013. « Regards sur la paysannerie pointelière à travers le recensement de 1831 ». Maîtrise, Montréal : Université du Québec à Montréal.
- Nielsen-Marsh, Christina M., Christin Stegemann, Ralf Hoffmann, Tanya Smith, Robin Feeney, Michel Toussaint, Katerina Harvati, Eleni Panagopoulou, Jean-Jacques Hublin, et Michael P. Richards. 2009. « Extraction and Sequencing of Human and Neanderthal Mature Enamel Proteins Using MALDI-TOF/TOF MS ». *Journal of Archaeological Science* 36 (8) : 1758-1763. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2009.04.004>.
- Ninfa, Alexander J., et David P. Ballou. 2004. *Fundamental laboratory approaches for biochemistry and biotechnology*. New York : John Wiley & Sons, Inc.
- Oliver-Lloyd, Vanessa. 2010. *Le patrimoine archéologique des cimetières euroquébécois étude produite dans le cadre de la participation du Québec au Répertoire canadien des lieux patrimoniaux, volet archéologique*. Québec : Ministère de la culture, des communications et de la condition féminine.
- Ono, Makoto et Vincent R. Harley. 2013. « Disorders of sex development: new genes, new concepts ». *Nature Reviews Endocrinology* 9 : 79-91. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2012.235>
- Onk, Sophie, Enrico Cappellini, et Matthew James Collins. 2012. « Soil Proteomics: An Assessment of Its Potential for Archaeological Site Interpretation ». *Organic Geochemistry* 50 (septembre) : 57-67. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2012.06.012>.
- Otter, Maarten, Constance Schrandt et Leopold Curfs. 2010. « Triple X syndrome: a review of the literature ». *European Journal of Human Genetics* 18 : 265-271. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.109>
- Parker, Glendon J., Julia M. Yip, Jelmer W. Eerkens, Michelle Salemi, Blythe Durbin-Johnson, Caleb Kiesow, Randall Haas, et al. 2019. « Sex Estimation Using Sexually Dimorphic Amelogenin Protein Fragments in Human Enamel ». *Journal of Archaeological Science* 101 (janvier) : 169-180.

- <https://doi.org/10.1016/j.jas.2018.08.011>.
- Patrimoine Experts. 2005. « Surveillance archéologique au centre-ville de Sainte-Marie, été 2004, Direction de Chaudière-Appalaches ». Rapport de recherche. Berthier-sur-Mer : Ministère des Transports, MCC.
- Phenice, T. W. 1969. « A Newly Developed Visual Method of Sexing the Os Pubis ». *American Journal of Physical Anthropology* 30 (2) : 297-301. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330300214>.
- Poinar, Hendrik N., et B. Artur Stankiewicz. 1999. « Protein Preservation and DNA Retrieval from Ancient Tissues ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96 (15) : 8426-8431. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.15.8426>.
- Porto, Isabel M., Helen J. Laure, Robert H. Tykot, Frederico B. de Sousa, Jose C. Rosa, et Raquel F. Gerlach. 2011a. « Recovery and Identification of Mature Enamel Proteins in Ancient Teeth: Protein Recovery from Ancient Dental Enamel ». *European Journal of Oral Sciences* 119 (décembre) : 83-87. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2011.00885.x>.
- Porto, Isabel Maria, Helen Julie Laure, Frederico Barbosa de Sousa, Jose Cesar Rosa, et Raquel Fernanda Gerlach. 2011b. « New Techniques for the Recovery of Small Amounts of Mature Enamel Proteins ». *Journal of Archaeological Science* 38 (12) : 3596-3604. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2011.08.030>.
- Pothier, Louise. 2004. « Ville-Marie française et amérindienne 1642-1685 ». In *L'histoire du Vieux-Montréal à travers son patrimoine*, 27-64. Montréal : Les publications du Québec.
- Prabha Subhash, R. Lakshmi, Anupama Panagar, M. K. Bindurani, K. L. Harshal, Jayarama S. Kadandale, Swathi Shetty et Meenakshi Bhat. 2020. « Jacob's Syndrome - A rare Case Report ». *SSAHE Journal of Interdisciplinary Research* 1 (1) : 1-4.
- Rebay-Salisbury, Katharina, Lukas Janker, Doris Pany-Kucera, Dina Schuster, Michaela Spannagl-Steiner, Lukas Waltenberger, Roderick B. Salisbury, et Fabian Kanz. 2020. « Child Murder in the Early Bronze Age: Proteomic Sex Identification of a Cold Case from Schleinbach, Austria ». *Archaeological and Anthropological Sciences* 12 (11) : 265. <https://doi.org/10.1007/s12520-020->

01199-8.

- Rebay-Salisbury, Katharina, Patricia Bortel, Lukas Janker, Marlon Bas, Doris Pany-Kucera, Roderick B. Salisbury, Christopher Gerner, et Fabian Kanz. 2022. « Gendered Burial Practices of Early Bronze Age Children Align with Peptide-Based Sex Identification: A Case Study from Franzhausen I, Austria ». *Journal of Archaeological Science* 139 (mars) : 105549. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2022.105549>.
- Renella, Giancarlo, Oladele Ogunseitan, Laura Giagnoni, et Mariarita Arenella. 2014. « Environmental Proteomics: A Long March in the Pedosphere ». *Soil Biology and Biochemistry* 69 (février) : 34-37. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.10.035>.
- Rey, Rodolfo A. et Romina P. Grinspon. 2011. « Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development ». *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 25 : 221-238. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2010.08.013>
- Ribot, Isabelle, Fanny Morland, et Marie-Ève Boisjoli. 2010. « La bioarchéologie humaine, à la frontière entre le « social » et le « biologique » : état de santé et démographie de populations historiques québécoises. » *Paléo-Québec* 34 : 27-54.
- Richter, Kristine Korzow, Maria C. Codlin, Melina Seabrook, et Christina Warinner. 2022. « A Primer for ZooMS Applications in Archaeology ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119 (20) : e2109323119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2109323119>.
- van Rijn, Sophie, Lex Stockmann, Martine Borghgraef, Hilgo Bruining, Conny van Ravenswaaij-Arts, Lutgarde Govaerts, Kerstin Hansson et Hanna Swaab. 2014. « The Social Behavioral Phenotype in Boys and Girls with an Extra X Chromosome (Klinefelter Syndrome and Trisomy X): A Comparison with Autism Spectrum Disorder ». *Journal of Autism and Developmental Disorders* 44 : 310–320. <https://doi.org/10.1007/s10803-013-1860-5>
- Robinson, Colin, Steven J. Brookes, Roger C. Shore, et Jennifer Kirkham. 1998. « The Developing Enamel Matrix: Nature and Function ». *European Journal of Oral Sciences* 106 (S1) : 282-291. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1998.tb02188.x>.

- Sandberg, Paul A., Matt Sponheimer, Julia Lee-Thorp, et Dennis Van Gerven. 2014. « Intra-tooth stable isotope analysis of dentine: A step toward addressing selective mortality in the reconstruction of life history in the archaeological record ». *American Journal of Physical Anthropology* 155 (2) : 281-93. <https://doi.org/10.1002/ajpa.22600>.
- Sarma, Annamraju D., Nathan W. Oehrle, et David W. Emerich. 2008. « Plant Protein Isolation and Stabilization for Enhanced Resolution of Two-Dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis ». *Analytical Biochemistry* 379 (2): 192-195. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.04.047>.
- Sawafuji, Rikai, Enrico Cappellini, Tomohito Nagaoka, Anna K. Fotakis, Rosa Rakownikow Jersie-Christensen, Jesper V. Olsen, Kazuaki Hirata, et Shintaroh Ueda. 2017. « Proteomic Profiling of Archaeological Human Bone ». *Royal Society Open Science* 4 (6) : 161004. <https://doi.org/10.1098/rsos.161004>.
- Schroeter, Elena R., Kevin Blackburn, Michael B. Goshe, et Mary H. Schweitzer. 2019. « Proteomic Method to Extract, Concentrate, Digest and Enrich Peptides from Fossils with Coloured (Humic) Substances for Mass Spectrometry Analyses ». *Royal Society Open Science* 6 (8) : 181433. <https://doi.org/10.1098/rsos.181433>.
- Scheuer, Louise, et Sue Black. 1996. « Age Changes in the Clavicle: From the Early Neonatal Period to Skeletal Maturity. » *International Journal of Osteoarchaeology* 6 : 425-434.
- Scheuer, Louise, Sue Black, et Maureen Schaefer. 2009. « Juvenile Osteology: A Laboratory and Field Manual ». Elsevier.
- Schmitt, Aurore. 2005. « Une nouvelle méthode pour estimer l'âge au décès des adultes à partir de la surface sacro-pelvienne iliaque ». *Bulletins et mémoires de la société d'anthropologie de Paris* 17 (1-2) : 89-101. <https://doi.org/10.4000/bmsap.943>.
- Schutkowski, Holger. 1993. « Sex Determination of Infant and Juvenile Skeletons: I. Morphognostic Features ». *American Journal of Physical Anthropology* 90 (2) : 199-205. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330900206>.
- Scopes, Robert K. 1974. « Measurement of Protein by Spectrophotometry at 205 nm ». *Analytical*

Biochemistry 59 : 277-282.

- Simmer, James P., et Alan G. Fincham. 1995. « Molecular Mechanisms of Dental Enamel Formation ». *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 6 (2) : 84-108. <https://doi.org/10.1177/10454411950060020701>.
- Séguy, Isabelle, et Luc Buchet [éd]. 2011. *Manuel de paléodémographie*. Les Manuels. Paris : Ined Éditions.
- Soucy, Roméo. 1999. « 1535-1699 ». *Pointe-aux-Trembles, 325 années d'histoire 1674-1999*, 1-8. L'Atelier d'histoire de la Pointe-aux-Trembles.
- Stewart, Nicolas Andre, Gabriela Ferian Molina, João Paulo Mardegan Issa, Nathan Andrew Yates, Mark Sosovicka, Alexandre Rezende Vieira, Sergio Roberto Peres Line, Janet Montgomery, et Raquel Fernanda Gerlach. 2016. « The Identification of Peptides by NanoLC-MS/MS from Human Surface Tooth Enamel Following a Simple Acid Etch Extraction ». *RSC Advances* 6 (66) : 61673-61679. <https://doi.org/10.1039/C6RA05120K>.
- Stewart, Nicolas Andre, Raquel Fernanda Gerlach, Rebecca L. Gowland, Kurt J. Gron, et Janet Montgomery. 2017. « Sex Determination of Human Remains from Peptides in Tooth Enamel ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (52) : 13649-13654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714926115>.
- Štrkalj, Goran, et Nalini Pather. 2021. « Beyond the Sex Binary: Toward the Inclusive Anatomical Sciences Education ». *Anatomical Sciences Education* 14 (4) : 513-518. <https://doi.org/10.1002/ase.2002>.
- Tarasevich, Barbara J., Christopher J. Howard, Jenna L. Larson, Malcolm L. Snead, James P. Simmer, Michael Paine, et Wendy J. Shaw. 2007. « The Nucleation and Growth of Calcium Phosphate by Amelogenin ». *Journal of Crystal Growth* 304 (2) : 407-415. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2007.02.035>.
- Thornton, Patricia, Sherry Olson, et Thuy Thach Quoc. 1989. « Dimensions sociales de la mortalité infantile à Montréal au milieu du XIXe siècle ». *Annales de démographie historique* 1988 (1) : 299-325. <https://doi.org/10.3406/adh.1989.1721>.

- Ubelaker, Douglas H. 1979. *Human Skeletal Remains : Excavation, Analysis, Interpretation*. Chicago : Aldine Pub. Co.
- Vallin, Jacques. 2006. « Chapter 53 Mortality, Sex, and Gender ». *Demography, Analysis and Synthesis. A Treatise in Population.*, Volume II : 177-194. Elsevier.
- Vigeant, Jacinthe. 2012. « Immigration et alimentation à Montréal aux XVIIe et XVIIIe siècles : Essai d'interprétation à partir d'analyses isotopiques sur des populations archéologiques ». Maîtrise, Montréal : Université de Montréal.
- Vigeant, Jacinthe, Isabelle Ribot, et Jean-François Hélie. 2017. « Dietary Habits in New France during the 17th and 18th Centuries: An Isotopic Perspective » *American Journal of Physical Anthropology* 162 (3) : 462-475. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23129>.
- Vlak, Dejana, Mirjana Roksandic, et Michael A. Schillaci. 2008. « Greater Sciatic Notch as a Sex Indicator in Juveniles ». *American Journal of Physical Anthropology* 137 (3) : 309-15. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20875>.
- Wadsworth, Caroline, et Mike Buckley. 2014. « Proteome Degradation in Fossils: Investigating the Longevity of Protein Survival in Ancient Bone: Proteome Degradation in Fossils ». *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 28 (6) : 605-615. <https://doi.org/10.1002/rcm.6821>.
- Warinner, Christina., Jessica Hendy, Camilla Speller, Enrico Cappellini, Roman Fischer, Christian Trachsel, Jette Arneborg, et al. 2015. « Direct Evidence of Milk Consumption from Ancient Human Dental Calculus ». *Scientific Reports* 4 (1) : 7104. <https://doi.org/10.1038/srep07104>.
- Warinner, Christina, João F Matias Rodrigues, Rounak Vyas, Christian Trachsel, Natallia Shved, Jonas Grossmann, Anita Radini, et al. 2014. « Pathogens and Host Immunity in the Ancient Human Oral Cavity ». *Nature Genetics* 46 (4) : 336-344. <https://doi.org/10.1038/ng.2906>.
- Warinner, Christina, Camilla Speller, et Matthew J. Collins. 2015. « A New Era in Palaeomicrobiology: Prospects for Ancient Dental Calculus as a Long-Term Record of the Human Oral Microbiome ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 370 (1660) : 20130376. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0376>.

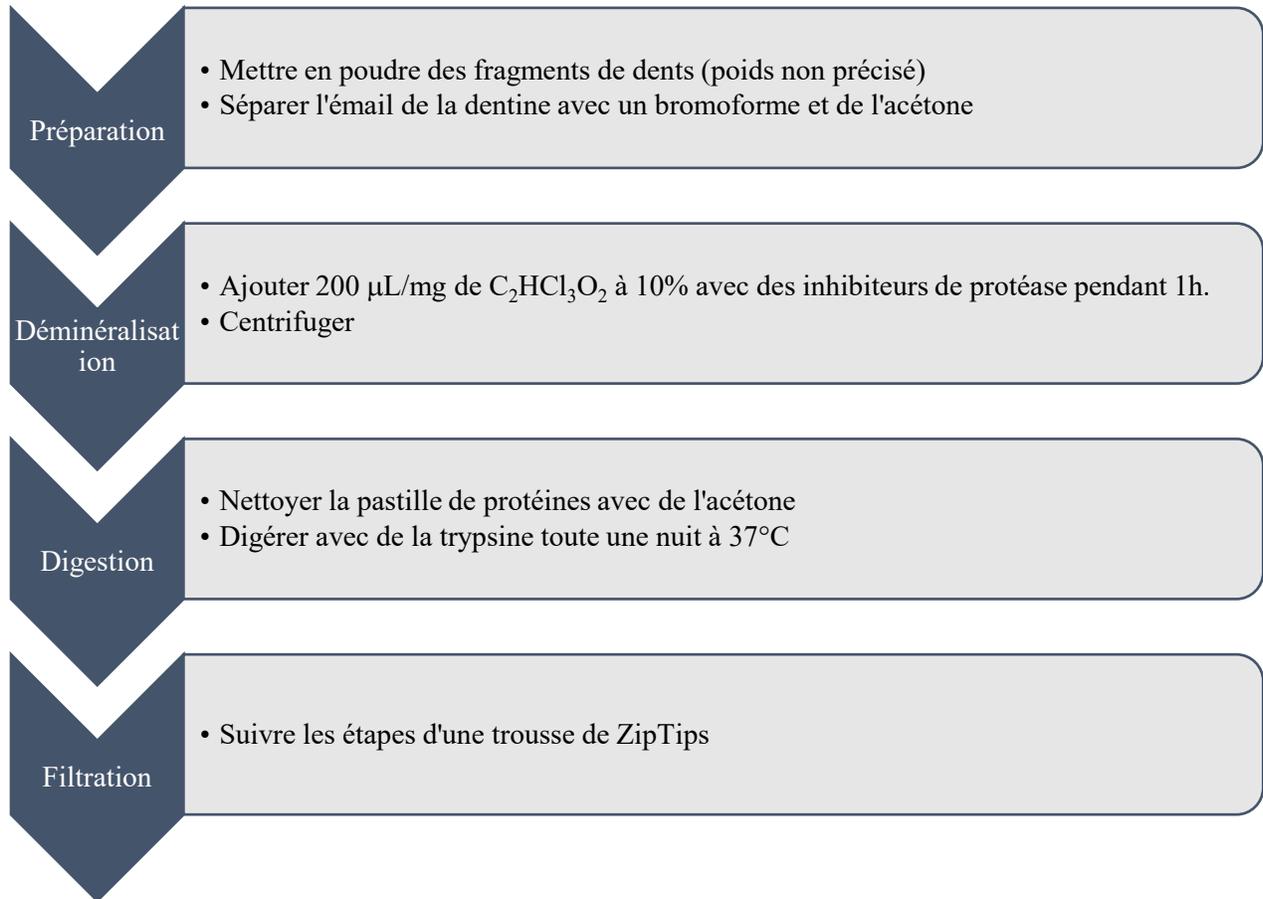
- Wasinger, Valerie C., Darren Curnoe, Sonia Bustamante, Raynold Mendoza, Rasmi Shoocongdej, Lewis Adler, Andy Baker, Kanoknart Chintakanon, Ceridwen Boel, et Paul S.C. Tacon. 2019. « Analysis of the Preserved Amino Acid Bias in Peptide Profiles of Iron Age Teeth from a Tropical Environment Enable Sexing of Individuals Using Amelogenin MRM ». *PROTEOMICS* 19 (5) : 1800341. <https://doi.org/10.1002/pmic.201800341>.
- White, Tim D., et Pieter A. Folkens. 2005. « The Human Bone Manual ». Academic Press.
- White, Tim D., Michael T. Black, et Pieter A. Folkens. 2012. *Human Osteology Third Edition*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374134-9.50029-5>.
- Wikström, Anne M. et Leo Dunkel. 2011. « Klinefelter syndrome ». *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 25 : 239–250. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2010.09.006>
- Woods, Alisa G., et Costel C. Darie, éd. 2014. *Advancements of Mass Spectrometry in Biomedical Research. Vol. 806. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Cham : Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06068-2>.
- Zapf, Antonia, Stefanie Castell, Lars Morawietz, et André Karch. 2016. « Measuring Inter-Rater Reliability for Nominal Data – Which Coefficients and Confidence Intervals Are Appropriate? ». *BMC Medical Research Methodology* 16 (1) : 93. <https://doi.org/10.1186/s12874-016-0200-9>.
- Zieminska, Renata. 2018. « Beyond Dimorphism: Intersex Persons and the Continuum of Sex Characteristics ». *International Journal of Gender and Women's Studies* 6 (1) : 176-184. <https://doi.org/10.15640/ijgws.v6n1p16>

Annexes

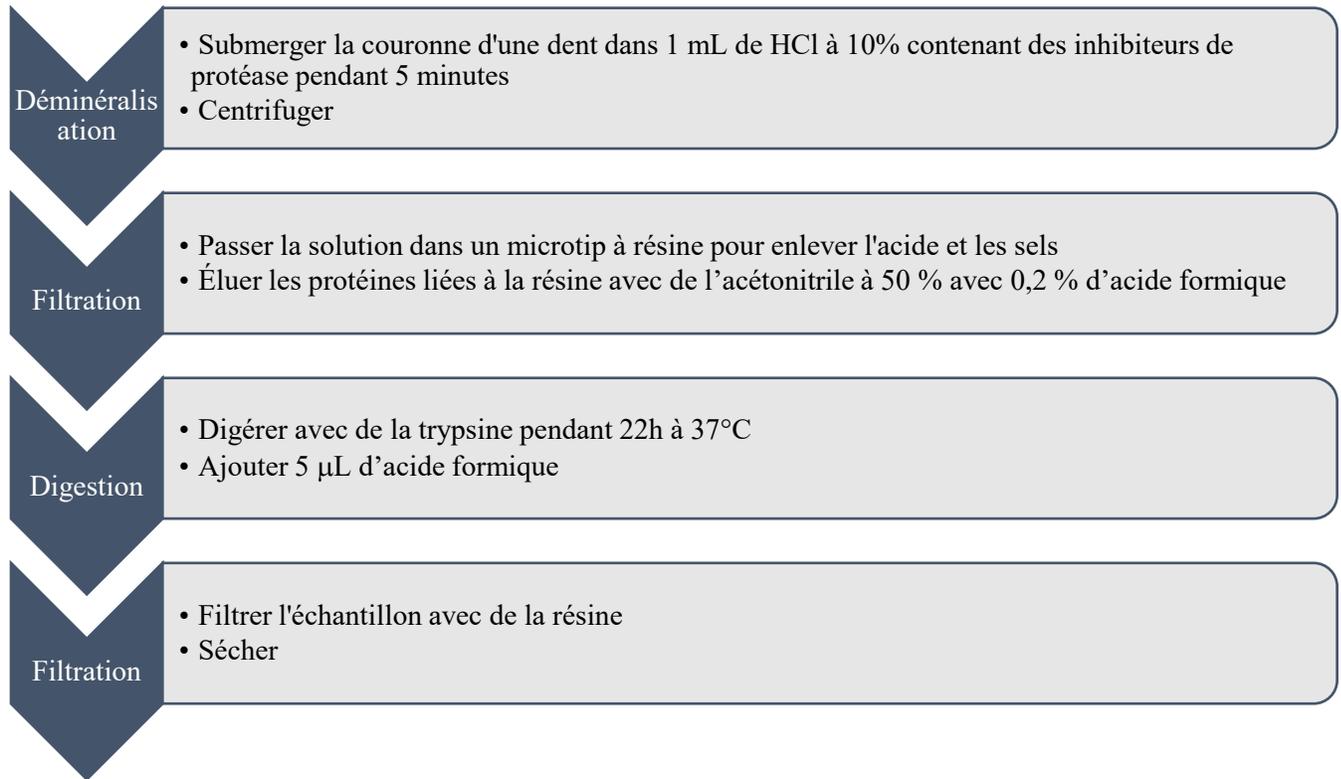
Annexe # 1

Détail des protocoles d'extraction des différentes études existantes nous permettant de choisir le protocole le plus approprié dans le cadre de la présente étude

Nielsen-Marsh et collègues (2009)

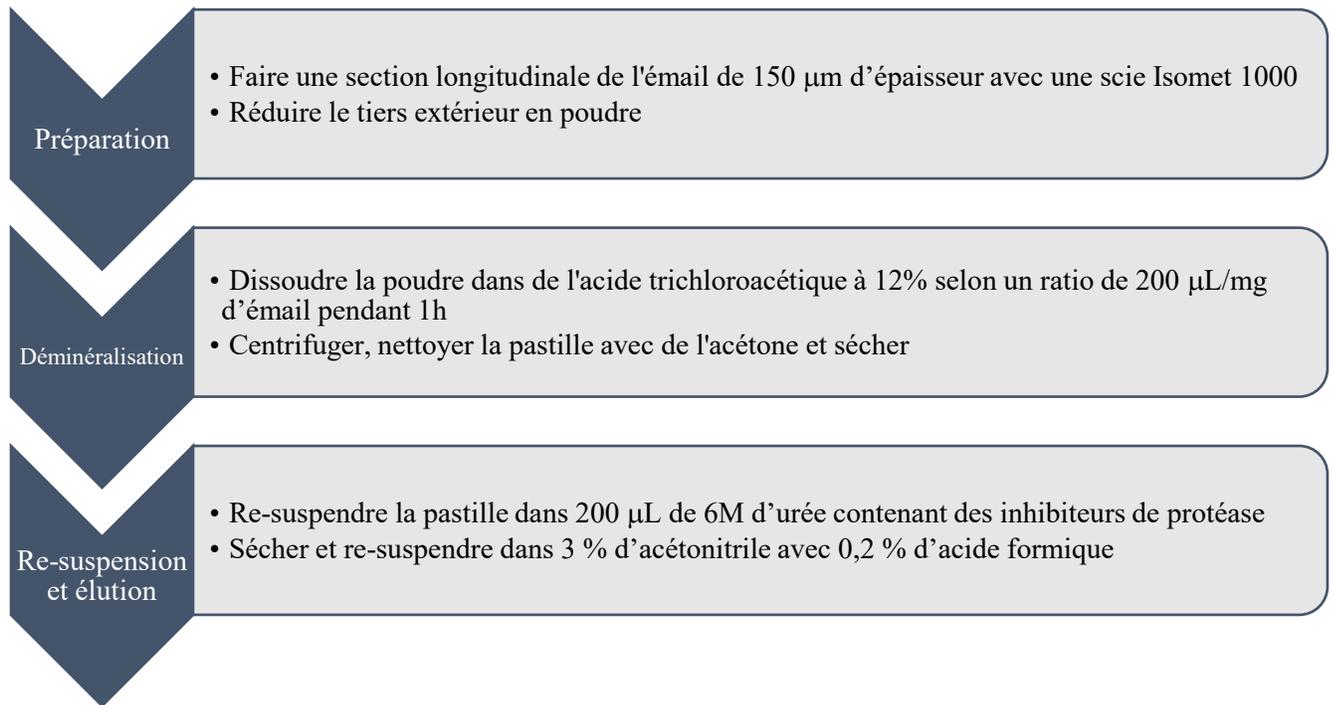


Porto et collègues (2011a)

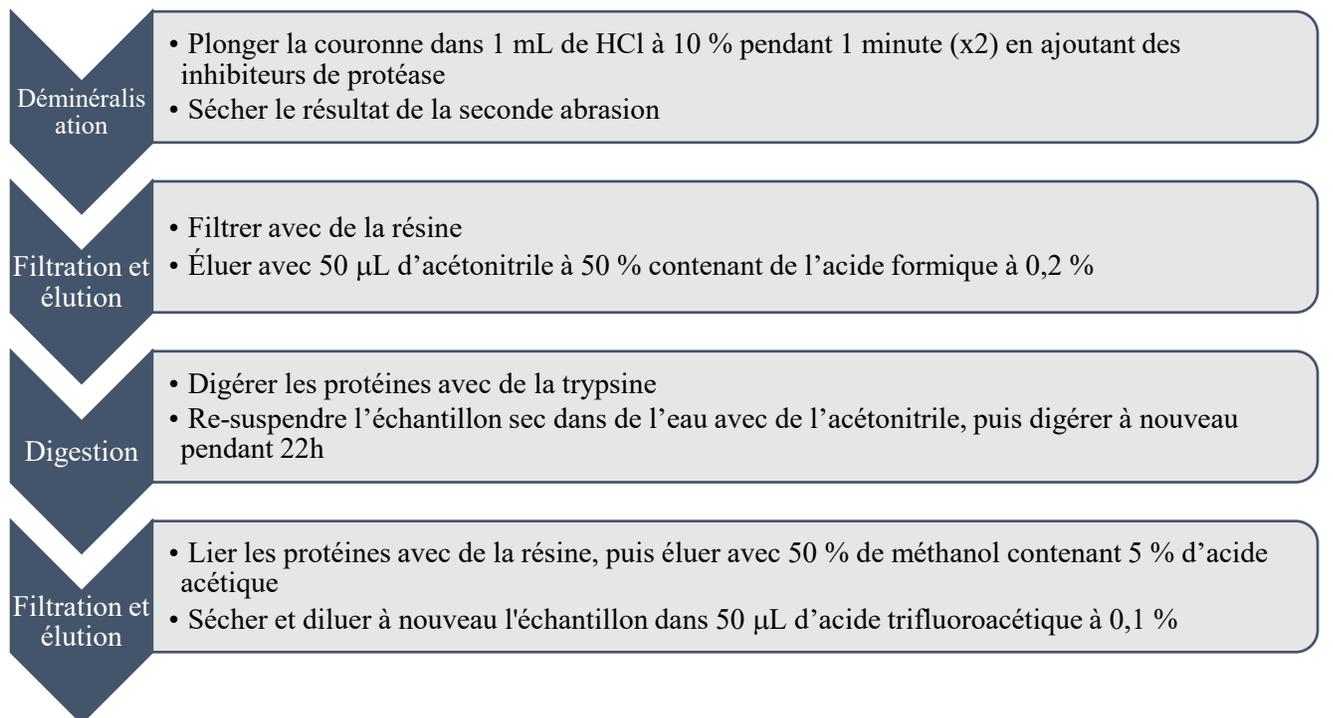


Dans une autre étude, Porto et collègues (2011b) ont aussi comparé trois méthodes afin de voir leur efficacité à extraire l'amélogénine. Premièrement, ils ont mis une couronne en poudre, ont séparé l'émail et la dentine à l'aide d'un bromoforme et d'acétone, ont précipité la poudre d'émail avec 200 µL/mg d'acide trichloroacétique à 12 % pendant 1h, ont centrifugé la solution pour faire une pastille et ont digéré les protéines. Deuxièmement, ils ont fait une abrasion complète de la couronne avec de l'acide chlorhydrique à 10 % ou de l'acide trichloroacétique à 12 % pendant un maximum de 30 minutes. Troisièmement, ils ont délimité une surface circulaire de 2 mm de diamètre sur la dent avec du ruban adhésif et y ont appliqué 5 µL d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) à 11,2 % avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1,25 % pendant 15 secondes. Le liquide résultant de l'abrasion a ensuite été transféré dans un tube avec de l'eau pour analyses.

Castiblanco et collègues (2015)

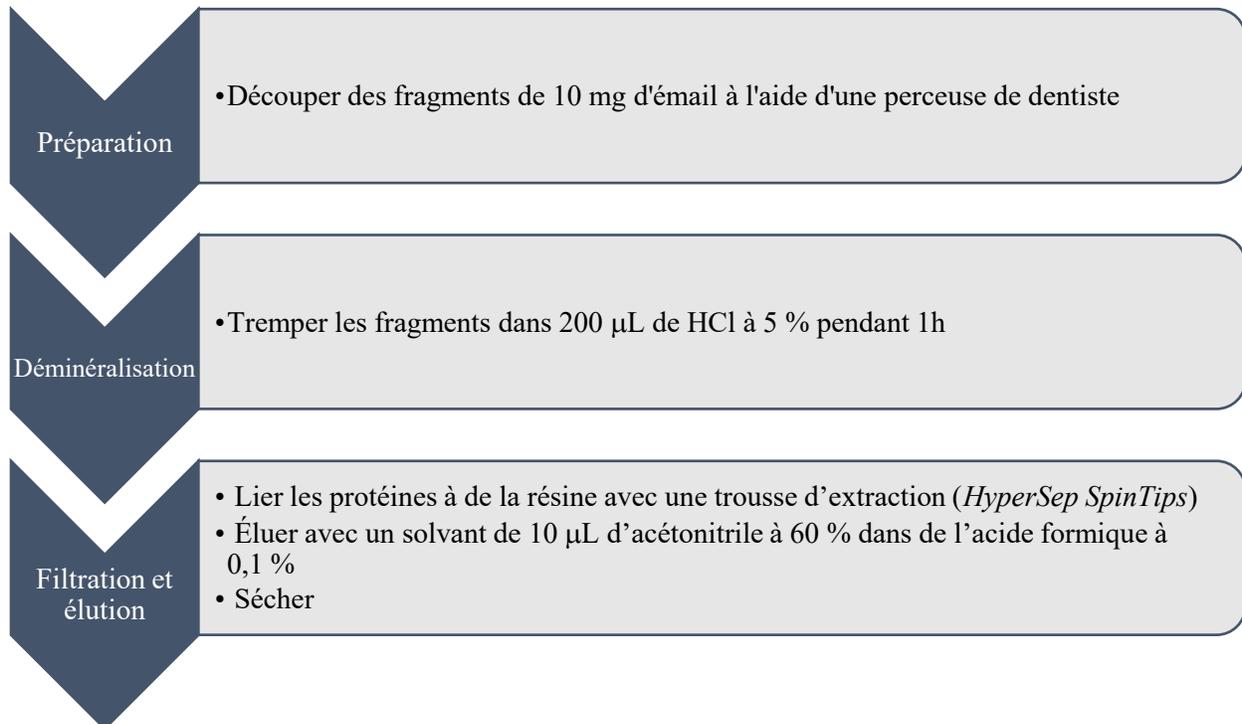


Stewart et collègues (2016)



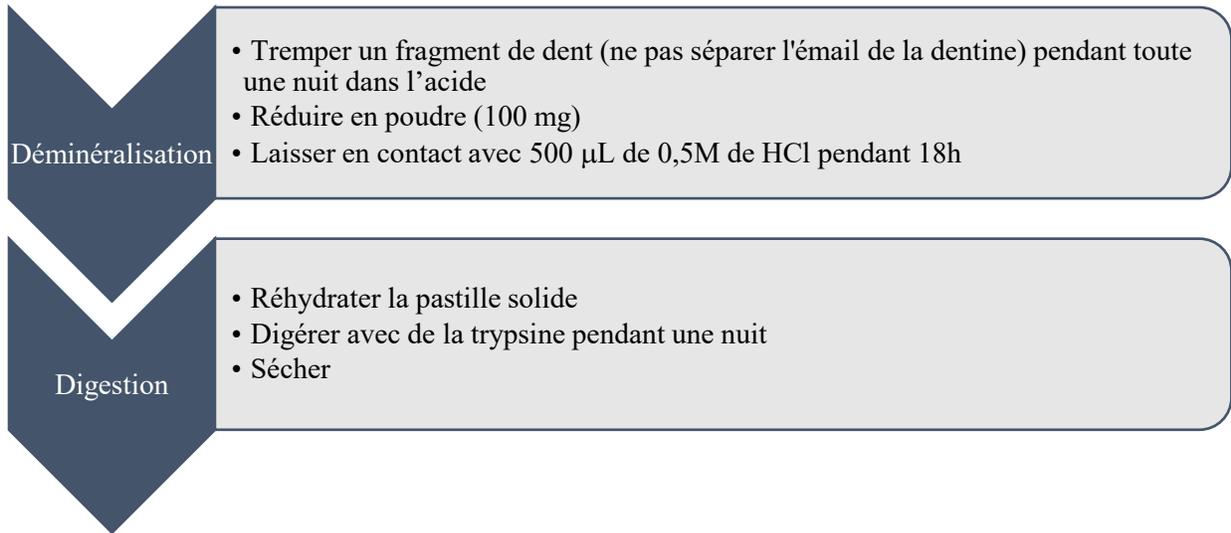
Dans un article l'année suivante (Stewart et al. 2017), l'abrasion de la couronne a été faite avec 0,2 mL de HCl à 5 % pendant 2 minutes (x2). Puis les étapes suivantes étaient assez semblables. Gowland et collègues (2021) ainsi que Rebay-Salisbury (2020) et collègues ont utilisé ce protocole pour leur étude.

Lugli et collègues (2019)

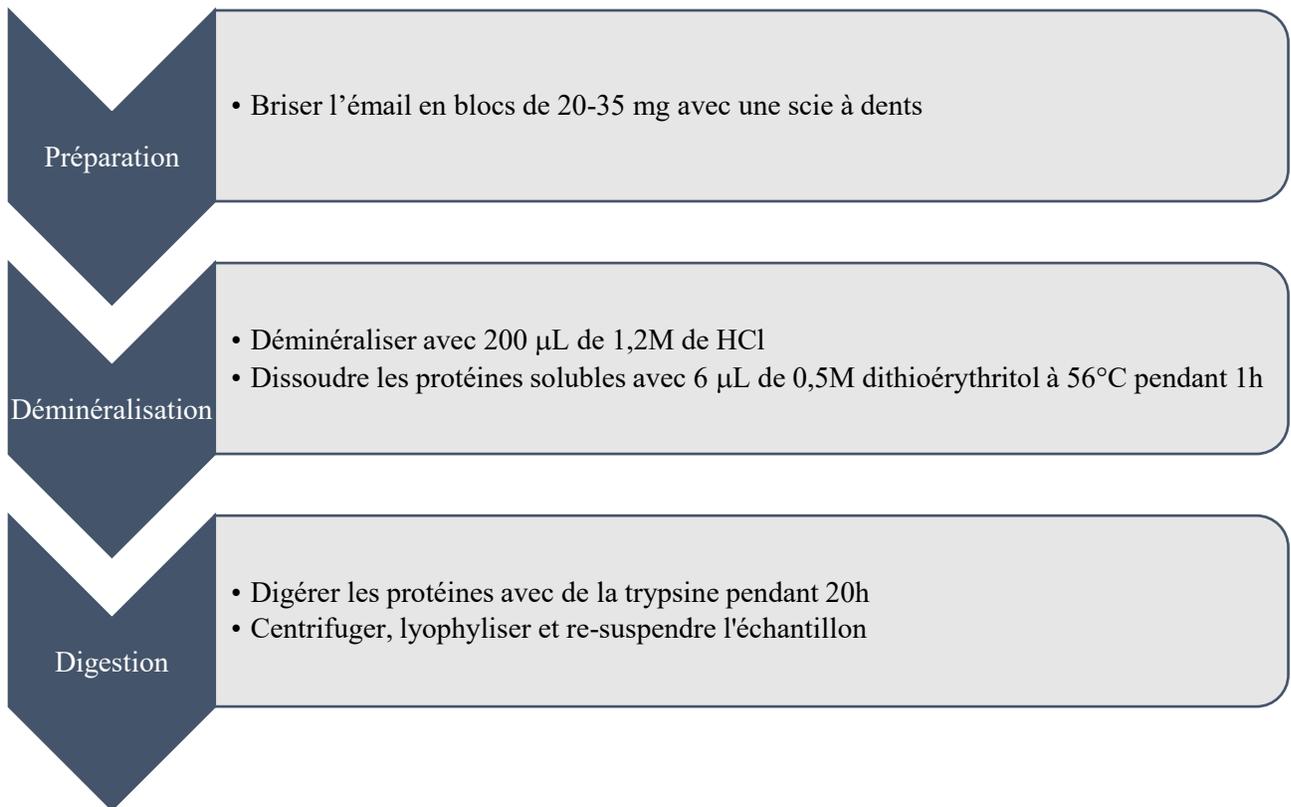


En 2020, une autre équipe dirigée par Lugli (Lugli et al. 2020) a utilisé la méthode sur un nouvel échantillon en utilisant ce même protocole pour une partie des spécimens et celui de Stewart et collègues (2017) sur le reste de l'échantillon. Cette fois-ci l'échantillon à analyser au spectromètre de masse était sous forme liquide.

Wasinger et collègues (2019)

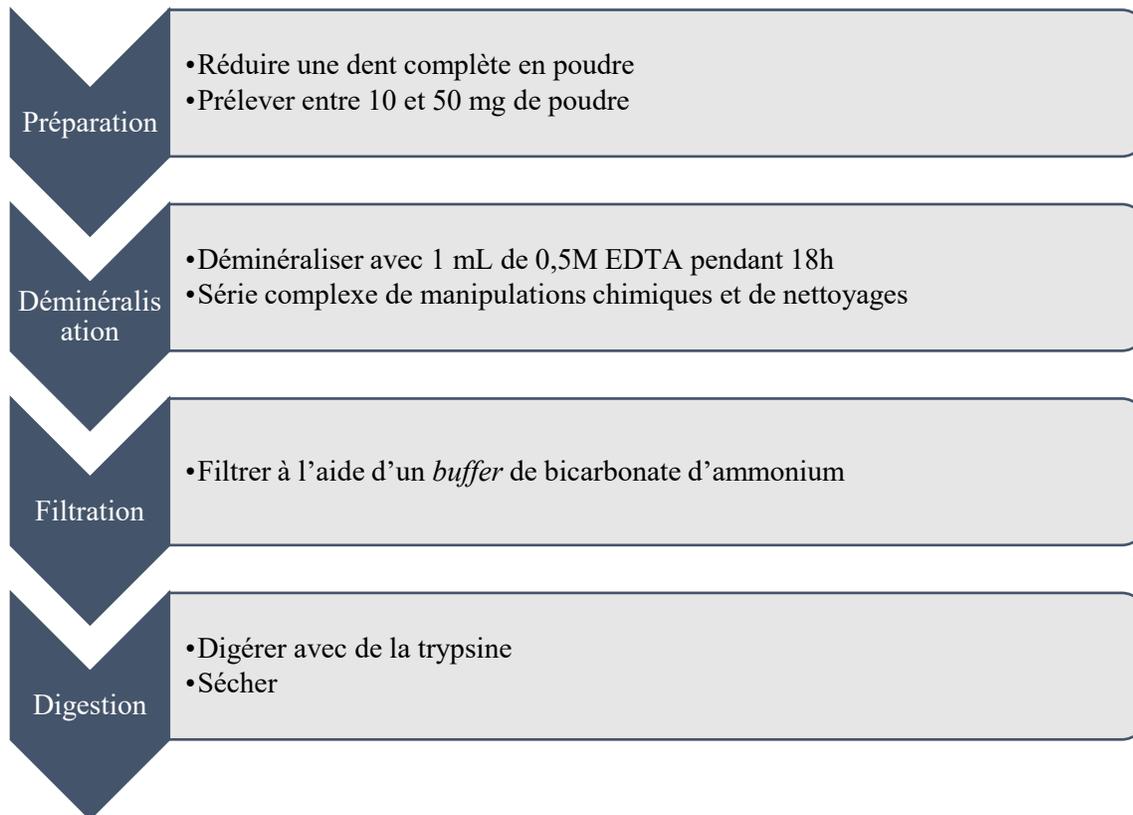


Parker et collègues (2019)



Buonasera et collègues (2020) ont procédé de la même manière.

Froment et collègues (2020)



Annexe # 2

Liste des individus par cimetière

Cimetière Notre-Dame de Ville-Marie (N=10), de Pointe-aux-Trembles (N = 15) et de Sainte-Marie de Beauce (N = 22)

Individus	Catégorie d'âge	Individus	Catégorie d'âge	Individus	Catégorie d'âge
4G-S1	Adulte	7A11-S61	Adulte	1C2	Juvénile
11D-S1	Adulte	7A2-S1	Juvénile	1G2	Juvénile
12C-S2	Juvénile	7A2-S5	Adulte	1G5	Adulte
12AA-S6	Juvénile	7A2-S7	Adulte	2A1	Juvénile
12CC-S3	Adulte	7A2-S22	Juvénile	2A13	Juvénile
12D-S1	Adulte	7A2-S24	Juvénile	2A15	Juvénile
12EE-S5	Adulte	7A2-S32	Juvénile	2A2	Juvénile
12W-S13	Juvénile	7A9-S13	Adulte	2B12	Juvénile
4M-1	Adulte	7A9-S16	Adulte	2B14	Adulte
12Z-S1	Adulte	7A9-S18	Juvénile	2B15	Adulte
		7A9-S27	Adulte	2B5	Adulte
		7A9-S38	Adulte	2B7	Adulte
		7A9-S39	Juvénile	2E13	Adulte
		7A9-S53	Juvénile	2E2	Juvénile
		7A9-S55	Juvénile	2E3	Juvénile
				2E4	Juvénile
				2E7	Juvénile
				2E8	Adulte
				2G12	Adulte
				2G4	Adulte
				2G5	Juvénile
				2G6	Adulte

Annexe # 3

Détail des méthodes utilisées pour estimer le sexe et l'âge des individus

Méthodes d'estimation de l'âge des juvéniles

Méthodes	Ensemble ostéologique observé	Nature	Populations de référence	Description
Ubelaker 1979	Dents	Morphologique	Autochtone des États-Unis	Comparer à un schéma d'éruption dentaire
AlQahtani et al. 2010	Dents	Morphologique	Européenne (XVIIIe au XXIe siècles)	Comparer à un schéma de calcification dentaire
Maresh 1970	Os longs	Métrique	Américaine (XXe siècle)	Mesurer la diaphyse des os longs et sélectionner l'âge correspondant à la mesure dans un tableau de croissance des os longs, tableau divisé par sexes
Molleson et Cox 1993	Bassin	Métrique	Anglaise (XVIIIe et XIXe siècles)	Mesurer la longueur et la largeur de l'ilium et sélectionner l'âge correspondant à la mesure dans un tableau de croissance de la ceinture pelvienne
Black et Scheuer 1996	Clavicule	Métrique	Européenne (XIXe et XXe siècles)	Mesurer la longueur de la clavicule et sélectionner l'âge correspondant à la mesure dans un tableau de croissance de la clavicule, données des deux sexes combinées
Schaefer, Black et Scheuer 2009	Épiphyes des os longs	Morphologique	Européenne (XXe siècle)	Établir un stade de fusion des épiphyses des os longs, individus de sexe masculin seulement

Méthodes d'estimation de l'âge des adultes

Méthodes	Ensemble ostéologique observé	Nature	Populations de référence	Description
Schmitt 2005	Bassin	Morphologique	Mondiale (XVIIIe au XXe siècles)	Établir un score de vieillissement de la surface auriculaire
Suchey et Brooks 1990	Bassin	Morphologique	Américaine (XXe siècle)	Établir un score de vieillissement de la symphyse pubienne
Lovejoy 1985	Dents	Morphologique	Autochtone paléohistorique (Américaine)	Établir un stade d'usure de l'émail sur la surface occlusale des dents
Albert et Maples 1995	Vertèbres	Morphologique	Américaine (XXe siècle)	Établir un stade de fusion des vertèbres

Méthodes d'estimation du sexe des individus adultes et juvéniles

Méthodes	Ensemble ostéologique observé	Nature	Populations de référence	Fiabilité	Description
Murail et al. 2005	Bassin	Métrique	Mondiale (XVIIIe au XXe siècles)	98-99%	Prendre 4 ou 5 mesures sur l'os coxal, établit une probabilité d'être un homme ou une femme
Bruzek 2002	Bassin	Morphologique	Française et Portugaise (XIXe et XXe siècles)	93-98%	Établir un score en analysant la grande échancrure ischiatique
Phenice 1969	Bassin	Morphologie	Américaine (XXe siècle)	> 95%, discutable	Établir un score sur plusieurs traits du bassin
Buikstra et Ubelaker 1994	Bassin	Morphologique	Américaine et Anglaise (XVIIIe et XIXe siècles)	> 90%	Établir un score sur plusieurs traits du bassin
Schutkowski 1993	Bassin (juvéniles)	Morphologique	Anglaise (XVIII et XIXe siècles)	70-90%	Décrire plusieurs traits de l'ilium en formation
Buikstra et Ubelaker 1994	Crâne	Morphologique	Américaine et Anglaise (XVIIIe et XIXe siècles)	82-90%	Établir un score sur plusieurs traits du crâne et de la mandibule
Byers 2009	Sacrum	Morphologie	Inconnue	Inconnue	Décrire plusieurs traits sur le sacrum

Annexe # 4

Détail des méthodes et des résultats des analyses ostéologiques par individu : Estimation de l'âge

Individus	Ubelaker 1979	AlQahtani 2010	Lovejoy 1985	Maresh 1970 humérus	Maresh 1970 fémur	Maresh 1970 tibia	Scheuer et Black 1996	Albert et Maples 1995	Schaefer, Black et Scheuer 2009	Schmidt 2005	Suchey et Brooks 1990	Molleson et Cox 1993	Inventaires variés	Âge moyen
Sainte-Marie														
1C2	8 ± 2 ans	8,5 ans	-	4,5-5 ans	-	-	-	-	-	-	-	>3 ans	-	7-8 ans
1G2	18 mois ± 6 mois	1,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5 ans
1G5	-	-	16-20 ans	-	-	-	-	-	-	>40 ans	-	-	-	16-20 ans
2A1	5 ± 1,5 ans	5,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,5 ans
2A13	10 ± 2,5 ans	11,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10-11 ans
2A15	9 ± 3 ans	8,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9 ans
2A2	6 ± 2 ans	6,5 ans	-	5-6 ans	-	-	-	-	-	-	-	>3 ans	-	6 ans
2B12	-	-	-	-	1,5 ans	-	-	-	-	-	-	1,5-3 ans	-	1,5-2 ans
2B14	-	-	16-20 (20- 24) ans	-	-	-	-	-	-	20-39 ans	-	-	-	16-39 ans
2B15	-	-	30-35 ans	-	-	-	-	-	-	>50 ans	-	-	-	30-35 ans
2B5	-	-	18-22 ans	-	-	-	-	-	-	30-59 ans	-	-	-	30-59 ans
2B7	-	-	20-24 ans	-	-	-	-	-	-	20-49 ans	F: 26-70 ans / M: 23-57 ans	-	-	20-49 ans
2E13	15 ± 3 ans	17,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17 ans
2E2	-	-	-	-	6 mois	-	-	-	-	-	-	4-9 mois	-	6 mois
2E3	3 ± 1 ans	2,5 ans	-	-	2 ans	-	-	-	-	-	-	2-3 ans	-	2-3 ans
2E4	2 ans ± 8 mois	2,5 ans	-	-	2-2,5 ans	2-2,5 ans	-	-	-	-	-	3 ans	-	2-3 ans
2E7	4 ± 1 ans	4,5 ans	-	2-2,5 ans	1,5 ans	-	-	-	-	-	-	1,5-3 ans	-	2,5 ans

Individus	Ubelaker 1979	AlQahtani 2010	Lovejoy 1985	Maresh 1970 humérus	Maresh 1970 fémur	Maresh 1970 tibia	Scheuer et Black 1996	Albert et Maples 1995	Schaefer, Black et Scheuer 2009	Schmidt 2005	Suchey et Brooks 1990	Molleson et Cox 1993	Inventaires variés	Âge moyen
2E8	15 ± 3 ans	17,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	>40 ans	-	-	-	17 ans
2G12	-	-	16-20 ans	-	-	-	-	-	-	30-59 ans	-	-	-	30-59 ans
2G4	-	-	16-22 ans	-	-	-	-	-	-	20-39 ans	-	-	-	16-39 ans
2G5	5 ± 1,5 ans	5,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,5 ans
2G6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>40 ans	-	-	20-35 ans	20-35 ans
Pointe- aux- trembles														
7A11- S61	-	-	16-20 (30- 35) ans	-	-	-	-	-	-	20-49 ans	F: 19-40 ans / M: 19-34 ans	-	-	16-49 ans
7A2-S1	18 mois ± 6 mois	1,5 ans	-	1,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	1-3 ans	-	1,5-2 ans
7A2-S5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>40 ans	F: 25-83 ans / M: 27-66 ans	-	-	>40 ans
7A2-S7	-	-	30-35 ans	-	-	-	-	-	-	20-49 ans	-	-	-	20-49 ans
7A2-S22	18 mois ± 6 mois	1,5 ans	-	1 an	-	-	-	-	-	-	-	1-2 ans	-	1,5 ans
7A2-S24	18 mois ± 6 mois	1,5 ans	-	1 an	-	-	-	-	-	-	-	1-2 ans	-	1,5 ans
7A2-S32	2 ans ± 8 mois	1,5 ans	-	-	1 an	1,5 ans	-	-	-	-	-	2-3 ans	-	1,5-2 ans
7A9-S13	15 ± 3 ans	16,5 ans	16-20 (30- 35) ans	-	-	-	-	-	-	20-29 ans	15-24 ans	-	-	16-29 ans
7A9-S16	-	-	-	-	-	-	-	>30 ans	-	-	-	-	-	>30 ans
7A9-S18	18 mois ± 6 mois	1,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5 ans
7A9-S27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>40 ans	-	-	-	>40 ans

Individus	Ubelaker 1979	AlQahtani 2010	Lovejoy 1985	Maresh 1970 humérus	Maresh 1970 fémur	Maresh 1970 tibia	Scheuer et Black 1996	Albert et Maples 1995	Schaefer, Black et Scheuer 2009	Schmidt 2005	Suchey et Brooks 1990	Molleson et Cox 1993	Inventaires variés	Âge moyen
7A9-S38	15 ± 3 ans	17,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	20-29 ans	15-24 ans	-	-	16-29 ans
7A9-S39	6 ± 2 ans	6,5 ans	-	3-4 ans	-	-	-	-	-	-	-	>3 ans	-	4-6 ans
7A9-S53	2 ans ± 8 mois	1,5 ans	-	2-2,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5-2,5 ans
7A9-S55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1-3 ans	1-3 ans
Notre Dame														
4G-S1	agénésie M3	-	16-22 ans	-	-	-	-	-	-	20-49 ans	-	-	-	16-49 ans
11D-S1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>40 ans	> 40 ans
12C-S2	-	-	-	9-11 ans	-	-	13-15 ans	<16 ans	<16 ans	20-29 ans	15-24 ans	>3 ans	-	9-15 ans
12AA-S6	2 ans ± 8 mois	2,5 ans	-	2-2,5 ans	-	-	-	-	-	-	-	2-3 ans	-	2,5 ans
12CC-S3	-	-	-	-	-	-	-	-	14-20 ans	-	-	-	-	14-20 ans
12D-S1	-	-	20-24 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20-24 ans
12EE-S5	-	-	16-20 ans	-	-	-	-	-	-	20-39 ans	-	-	-	16-39 ans
12W-S13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,5 ans	4,5 ans
4M-1	-	-	16-20 (30- 35) ans	-	-	-	-	>30 ans	-	-	-	-	-	30-35 ans
12Z-S1	-	-	16-24 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16-24 ans

Annexe # 5

Détail des méthodes et des résultats des analyses ostéologiques par individu : Estimation du sexe

Individus	Buikstra et Ubelaker 1994 (crâne)	Buikstra et Ubelaker 1994 (coxal)	Bruzek 2002	Phenice 1969	Byers 2009	Bruzek et Murail 2005	Schutzkowski 1993	Inventaires variés	Sexe
Sainte-Marie									
1C2	F	-	-	-	-	-	F	-	F
1G2	-	-	-	-	-	-	-	-	Ind.
1G5	TF	F	F	-	-	F	-	-	F
2A1	F	-	-	-	-	-	F	-	F
2A13	Ind.	-	-	-	-	-	-	-	Ind.
2A15	F	-	-	-	-	-	-	-	F
2A2	F	-	-	-	-	-	M	-	TM
2B12	-	-	-	-	-	-	Ind.	-	Ind.
2B14	F	F	TM	-	F	F	-	-	F
2B15	TM	M	M	-	M	M	-	-	M
2B5	TM	F	M	-	M	-	-	-	M
2B7	Ind.	Ind.	M	TM	M	M	-	-	TM
2E13	TF	F	F	-	-	F	-	-	F
2E2	-	-	-	-	-	-	TM	-	TM
2E3	-	-	-	-	-	-	F	-	F
2E4	-	-	-	-	-	-	F	-	F
2E7	-	-	-	-	-	-	F	-	F
2E8	F	Ind.	M	-	-	M	-	-	M
2G12	F	F	TF	-	-	-	-	-	F
2G4	M	Ind.	TM	-	-	M	-	-	M
2G5	F	-	-	-	-	-	-	-	F
2G6	TF	F	TF	-	-	F	-	-	F

Individus	Buikstra et Ubelaker 1994 (crâne)	Buikstra et Ubelaker 1994 (coxal)	Bruzek 2002	Phenice 1969	Byers 2009	Bruzek et Murail 2005	Schutzkowski 1993	Inventaires variés	Sexe
Pointe-aux-trembles									
7A11-S61	F	F	TF	F	TF	F	-	-	F
7A2-S1	-	-	-	-	-		F	-	F
7A2-S5	TM	M	M	TM	TM	M	-	-	TM
7A2-S7	M	M	M	-	-	F	-	-	TM
7A2-S22	-	-	-	-	-		F	-	F
7A2-S24	-	-	-	-	-		F	-	F
7A2-S32	-	-	-	-	-		F	-	F
7A9-S13	Ind.	F	TF	Ind.	-	F	-	-	F
7A9-S16	TM	-	-	-	-		-	-	TM
7A9-S18	-	-	-	-	-		-	-	Ind.
7A9-S27	F	F	F	-	-	F	-	-	F
7A9-S38	F	F	F	TM	-	F	-	-	F
7A9-S39	-	-	-	-	-	-	F	-	F
7A9-S53	-	-	-	-	-	-	-	-	Ind.
7A9-S55	-	-	-	-	-	-	-	-	Ind.
Notre Dame									
4G-S1	Ind.	F	F	-	M	F	-	-	F
11D-S1	Ind.	-	-	-	-	-	-	M	M
12C-S2	F	Ind.	-	-	-	-	M	-	TM
12AA-S6	-	-	-	-	-	-	F	-	F
12CC-S3	-	-	-	-	-	-	-	F	F
12D-S1	Ind.	-	-	-	-	-	-	-	TM
12EE-S5	Ind.	F	TF	-	-	-	-	-	TF
12W-S13	-	-	-	-	-	-	-	-	Ind.

Individus	Buikstra et Ubelaker 1994 (crâne)	Buikstra et Ubelaker 1994 (coxal)	Bruzek 2002	Phenice 1969	Byers 2009	Bruzek et Murail 2005	Schutzowski 1993	Inventaires variés	Sexe
4M-1	M	-	-	-	-	-	-	-	M
12Z-S1	M	-	-	-	-	-	-	-	M

Annexe # 6

Comparaison entre l'âge dentaire avec l'éruption dentaire (Ubelaker 1979) et la calcification dentaire (AlQahtani 2010) pour 18 individus

Individus	Âge dentaire (Ubelaker 1979)	Âge dentaire (AlQahtani 2010)
1C2	8 ± 2 ans	8,5 ans
1G2	18 mois ± 6 mois	1,5 ans
2A1	5 ± 1,5 ans	5,5 ans
2A13	10 ± 2,5 ans	11,5 ans
2A15	9 ± 3 ans	8,5 ans
2A2	6 ± 2 ans	6,5 ans
2E13	15 ± 3 ans	17,5 ans
2E3	3 ± 1 ans	2,5 ans
2E4	2 ans ± 8 mois	2,5 ans
2E7	4 ± 1 ans	4,5 ans
2E8	15 ± 3 ans	17,5 ans
2G5	5 ± 1,5 ans	5,5 ans
7A2-S1	18 mois ± 6 mois	1,5 ans
7A2-S22	18 mois ± 6 mois	1,5 ans
7A2-S24	18 mois ± 6 mois	1,5 ans
7A2-S32	2 ans ± 8 mois	1,5 ans
7A9-S13	15 ± 3 ans	16,5 ans
7A9-S18	18 mois ± 6 mois	1,5 ans
7A9-S38	15 ± 3 ans	17,5 ans
7A9-S39	6 ± 2 ans	6,5 ans
7A9-S53	2 ans ± 8 mois	1,5 ans
12AA-S6	2 ans ± 8 mois	2,5 ans

Annexe # 7

Mesures des os longs sur 15 individus juvéniles des trois cimetières à l'étude

Individus	Maresh 1970						Black et Scheuer 1996	
	Longueur humérus (mm)	Âge longueur humérus	Longueur fémur (mm)	Âge longueur fémur	Longueur tibia (mm)	Âge longueur tibia	Longueur clavicule (mm)	Âge longueur clavicule
1C2	177 mm	4,5-5 ans	-	-	-	-	-	-
2A2	182 mm	5-6 ans	-	-	-	-	-	-
2B12	-	-	156 mm	1,5 ans	-	-	-	-
2E2	-	-	113,24 mm	6 mois	-	-	-	-
2E3	-	-	168 mm	2 ans	-	-	-	-
2E4	-	-	180 mm	2-2,5 ans	148,16 mm	2-2,5 ans	-	-
2E7	133,02 mm	2-2,5 ans	161 mm	1,5 ans	-	-	-	-
7A2-S1	113,14 mm	1,5 ans	-	-	-	-	-	-
7A2-S22	98,6 mm	1 an	-	-	-	-	-	-
7A2-S24	108,24 mm	1 an	-	-	-	-	-	-
7A2-S32	-	-	144,9 mm	1 an	120,34 mm	1,5 ans	-	-
7A9-S39	156 mm	3-4 ans	-	-	-	-	-	-
7A9-S53	131 mm	2-2,5 ans	-	-	-	-	-	-
12C-S2	238 mm	9-11 ans	-	-	-	-	120 mm	13-15 ans
12AA-S6	131,47 mm	2-2,5 ans	-	-	-	-	-	-

Annexe # 8

Comparaison des méthodes d'estimation du sexe avec les méthodes sur l'os coxal et le sacrum pour les adultes (N = 19)

Individus	Méthode visuelle coxal (Buikstra et Ubelaker 1994)		Méthode visuelle coxal (Bruzek 2002)						Méthode visuelle coxal (Phenice 1969)				Méthode visuelle sacrum (Byers 2009)			DSP (Bruzek et Murail 2005)							
	Score échanturure	Sexe	Échanturure	Arche composée	Sillon préauriculaire	Rapport ischio-pubien	Pubis	Sexe	Arc ventral	Ramus ischio-pubien	Concavité sous-pubienne	Sexe	Long/larg	Courbure	Ailes	Sexe sacrum	SCOX	SS	SA	SIS	VEAC	Pourcentage	Sexe DSP
Sainte-Marie																							
1G5	1	F*	m-f-f	simple	P**	f	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-	133,06	66,44	69,42	32,08	49,11	79,5	F
2B14	2	F	m-m-f	simple	A	-	-	TM	-	-	-	-	court/large	droit	larges	F	148,26	70,1	66,96	31,77	47,89	90,1	F
2B15	4	M	m-m-m	simple	-	-	-	M	-	-	-	-	long/mince	courbé	courtes	M	146,42	72,98	69,99	36,99	55,11	97,1	M
2B5	2	F	f-m-m	simple	A	-	-	M	-	-	-	-	long/mince	courbé	courtes	M	-	-	-	-	-	-	-
2B7	3	Ind.	m-m-m	simple	A	m	f-m-f	M	m	f	m	TM	long/mince	courbé	courtes	M	163,11	77,22	79,41	37,02	55,87	78,2	M

	Méthode visuelle coxal (Buikstra et Ubelaker 1994)		Méthode visuelle coxal (Bruzek 2002)						Méthode visuelle coxal (Phenice 1969)				Méthode visuelle sacrum (Byers 2009)			DSP (Bruzek et Murail 2005)							
Individus	Score échanerure	Sexe	Échanerure	Arche composée	Sillon préauriculaire	Rapport ischio-pubien	Pubis	Sexe	Arc ventral	Ramus ischio-pubien	Concavité sous-pubienne	Sexe	Long/larg	Courbure	Ailes	Sexe sacrum	SCOX	SS	SA	SIS	VEAC	Pourcentage	Sexe DSP
2E13	1	F	f-f-f	simple	P	-	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-	144,11	60,02	69,26	32,9	50,4	97,6	F
2E8	3	Ind.	m-m-m	simple	A	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	140	72,45	75,31	39,15	57,2	98,9	M
2G12	1	F	f-f-f	simple	A	-	-	TF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2G4	3	Ind.	m-m-f	simple	A	-	-	TM	-	-	-	-	-	-	-	-	137,37	69,04	77	38,67	56,59	94,9	M
2G6	2	F	f-f-f	simple	A	-	-	TF	-	-	-	-	-	-	-	-	139,5	63,74	74,41	35,23	50,4	93,9	F
Pointe-aux-trembles																							
7A11-S61	1	F	f-f-f	simple	A	f	f-m-f	TF	f	f	f	F	long/mince	courbé	large	TF	161,5	67,99	74,12	32,1	54,03	91,5	F

	Méthode visuelle coxal (Buikstra et Ubelaker 1994)		Méthode visuelle coxal (Bruzek 2002)						Méthode visuelle coxal (Phenice 1969)				Méthode visuelle sacrum (Byers 2009)			DSP (Bruzek et Murail 2005)							
Individus	Score échanerure	Sexe	Échanerure	Arche composée	Sillon préauriculaire	Rapport ischio-pubien	Pubis	Sexe	Arc ventral	Ramus ischio-pubien	Concavité sous-pubienne	Sexe	Long/larg	Courbure	Ailes	Sexe sacrum	SCOX	SS	SA	SIS	VEAC	Pourcentage	Sexe DSP
7A2-S5	4	M	m-m-m	simple	-	m	m-m-m	M	f	m	m	TM	long/large	un peu courbé	larges	TM	157,72	74,85	79,87	39,52	54,56	65,4	M
7A2-S7	5	M	m-m-m	composé	A	m	-	M	-	-	-	-	·	·	·	-	131,21	63,34	70,41	33,21	50,64	85,2	F
7A9-S13	1	F	f-f-f	simple	P	-	m-m-m	TF	f	m	-	Ind.	·	·	·	-	147,89	65,11	75,89	30,54	55,99	97,5	F
7A9-S27	1	F	f-f-f	composé	P	-	-	F	-	-	-	-	·	·	·	-	149,56	63,63	79,56	29,85	49,14	99,9	F
7A9-S38	1	F	f-f-f	composé	A	m	f-f-f	F	m	f	m	TM	·	·	·	-	151,72	65,58	82,34	29,85	49,88	99,9	F
Notre Dame																							
4G-S1	2	F	f-f-f	composé	P	-	-	F	-	-	-	-	long/mince	courbé	·	M	165	58,17	71,09	24,13	40,68	100	F

	Méthode visuelle coxal (Buikstra et Ubelaker 1994)		Méthode visuelle coxal (Bruzek 2002)						Méthode visuelle coxal (Phenice 1969)				Méthode visuelle sacrum (Byers 2009)			DSP (Bruzek et Murail 2005)							
Individus	Score échancre	Sexe	Échancre	Arche composée	Sillon préauriculaire	Rapport ischio-pubien	Pubis	Sexe	Arc ventral	Ramus ischio-pubien	Concavité sous-pubienne	Sexe	Long/larg	Courbure	Ailes	Sexe sacrum	SCOX	SS	SA	SIS	VEAC	Pourcentage	Sexe DSP
12C-S2	3	Ind.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12EE-S5	1	F	f-f-f	simple	P	-	-	TF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Description des valeurs :

* F ou f = trait féminin, M ou m = trait masculin, TF ou TM = tendance féminine ou tendance masculine du trait, ind. = trait ambigu/sexe indéterminé

** P = présence du trait, A = absence du trait

Annexe # 9*Nombre d'individus par groupe d'âges pour l'ensemble des cimetières (N = 47)*

Cimetières	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
Notre-Dame	1	1	1	2	4	1	10
Pointe-aux-Trembles	7	1	0	0	4	3	15
Sainte-Marie de Beauce	3	5	4	3	5	2	22
Total	11	7	5	5	13	6	47

Annexe # 10

Détail du sexe (ostéologie) des individus en fonction du groupe d'âge par cimetière

Tous les cimetières (N = 47)

Sexe	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
F	5	6	2	3	7	2	25
M	1	0	2	2	6	4	15
Indéterminé	5	1	1	0	0	0	7
Total	11	7	5	5	13	6	47

Cimetière Notre-Dame de Ville-Marie (N = 10)

Sexe	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
F	1	0	0	1	2	0	4
M	0	0	1	1	2	1	5
Indéterminé	0	1	0	0	0	0	1
Total	1	1	1	2	4	1	10

Cimetière de Pointe-aux-Trembles (N = 15)

Sexe	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
F	4	1	0	0	3	1	9
M	0	0	0	0	1	2	3
Indéterminé	3	0	0	0	0	0	3
Total	7	1	0	0	4	3	15

Cimetière de Sainte-Marie de Beauce (N = 22)

Sexe	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
F	0	5	2	2	2	1	12
M	1	0	1	1	3	1	7
Indéterminé	2	0	1	0	0	0	3
Total	3	5	4	3	5	2	22

Annexe # 11

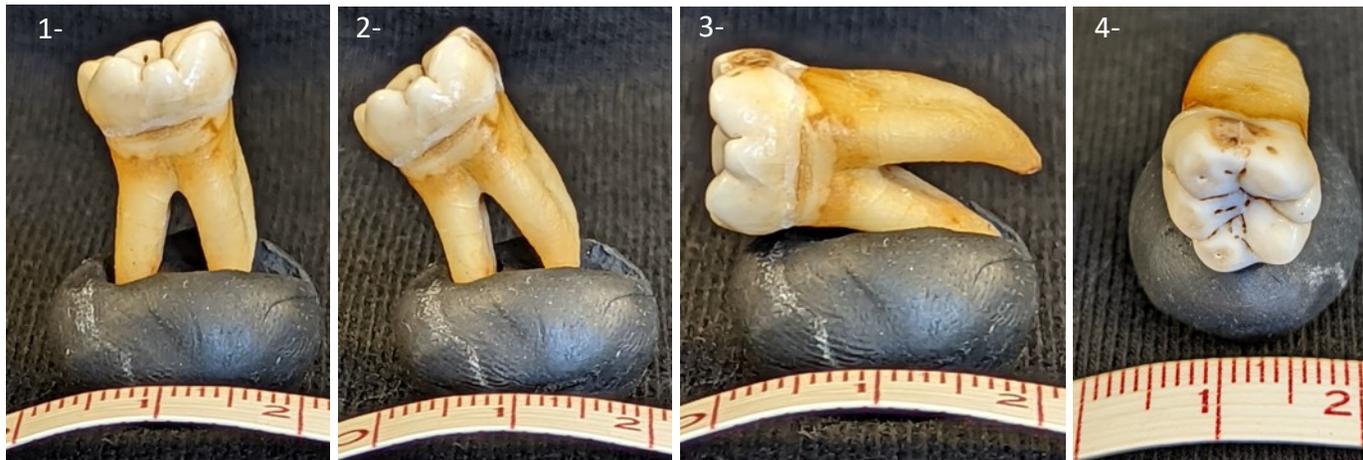
Numérisation 3D de l'échantillon : Paramètres et réglages des appareils pour la numérisation de l'échantillon dentaire

Appareil	Nikon D500
Lumière	5 panneaux LED (SP-500D), lumière du jour
Sensibilité	iso 100
Ouverture	F18 ou F22
Vitesse d'obturation	1/1.6 ou 1/2.5
Exposition	Focus manuel

Numérisation 3D de l'échantillon : Description des photographies à effectuer pour une dent

Angle vertical de la dent	Nombre de photos	Angle horizontal
1- Dent verticale sur les racines (debout), face buccale vers l'appareil	24	-20°
2- Dent penchée vers face mésiale (en angle), face buccale vers l'appareil	24	-20°
3- Dent sur face mésiale (couchée), face buccale vers l'appareil	24	-20°
4- Dent sur face mésiale, face occlusale vers l'appareil	1	-20°

Exemples de position de la dent (photos : Jade Parent 2022) :



Annexe # 12

Protocole d'extraction des protéines détaillé

Introduction

Le protocole suivant a été développé à partir du protocole élaboré par Stewart et collègues (Stewart *et al.* 2017). Nous avons également pris en compte les protocoles de Stewart et collègues (Stewart *et al.* 2016) et de Parker et collègues (Parker *et al.* 2019).

Matériel

Échantillon de 53 molaires à analyser	Eppendorfs pour aliquotes
Solution de peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) à 30%	53 Eppendorfs de 0,2 mL pour FT
Solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 100%	53 Eppendorfs de 0,2 mL pour digestion
Solution d'acide formique (CH ₂ O ₂) à 100%	53 Eppendorfs de 0,2 mL pour élution
Solution d'acétonitrile (CH ₃ CN) à 100%	Micropipettes (P10, P20, P1000)
Inhibiteur de protéase	Pincettes
Pic dentaire	53 ZipTip à résine C18 (ZTC18S096; EMD Millipore)
Eau distillée	Nacelles de pesée

Solutions à préparer

10 mL de solution de H₂O₂ à 3% (vol/vol) → $30\% \times (V1) = 3\% \times (10\text{mL})$ → 1mL de H₂O₂ 30%

10 mL de solution de HCl à 5% (vol/vol) → $100\% \times (V1) = 5\% \times (10\text{mL})$ → 0,5mL de HCl 100%

5 mL de solution d'acide formique (CH₂O₂) à 0,1% (vol/vol) → $100\% \times (V1) = 0,1\% \times (5\text{mL})$
→ 0,005mL de CH₂O₂ 100% soit 5μL

2 mL de buffer composé d'acétonitrile (CH₃CN) à 60% (vol/vol) et d'acide formique (CH₂O₂) à 0,1% (vol/vol) → $60\% \times (2\text{mL}) / 100\% = 1,2\text{mL}$ d'acétonitrile
→ $0,1\% \times (2\text{mL}) / 100\% = 0,002\text{mL}$ de CH₂O₂ soit 2μL

Protocole (Stewart *et al.* 2017)

1. Afin d'éliminer les contaminants (sol, tartre, etc.) présents à la surface de la dent, gratter la dent avec un pic dentaire. Ensuite, traiter l'émail en mettant la dent dans une nacelle avec 1 à 2 mL d'une solution de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 3% durant 30 secondes. Puis, rincer la dent avec de l'eau distillée.
2. Pour la digestion des protéines, il faut d'abord procéder à l'abrasion de l'émail. Mettre 60 μL de HCl à 5% (vol/vol) dans une nacelle en s'assurant que la solution liquide forme un ménisque convexe (une grosse goutte).
3. À l'aide de pincettes, mettre la dent en contact avec la solution de HCl en mettant la surface de l'émail directement sur la goutte. Garder la dent dans la solution de HCl pendant 2 minutes. Retirer la dent et jeter la solution liquide contenant cette première abrasion.
4. Ensuite, avec la solution de HCl à 5% (vol/vol), préparer une solution de 300 μL de HCl à laquelle on ajoute 33 μL d'inhibiteur de protéase.
5. Mettre 60 μL de la solution de HCl contenant l'inhibiteur de protéase dans la même nacelle qu'à l'étape 2 en formant un ménisque convexe. Mettre la même surface de l'émail de la dent en contact

avec cette nouvelle goutte et la garder en contact avec la solution pendant 1 heure. Retirer la dent en gardant cette fois la solution liquide contenant la deuxième abrasion. Conserver cette solution dans un Eppendorf pour l'extraction des peptides et centrifuger pour que les résidus minéraux forment un culot au fond. Rincer la dent avec de l'eau distillée.

6. Pour procéder à la séparation des composantes de l'émail et à l'extraction des peptides, attacher un ZipTip à résine C18 (ZTC18S096; EMD Millipore) à une micropipette ajustée à 10 μL . Ensuite, conditionner le ZipTip 3 fois avec 10 μL d'acétonitrile (CH_3CN) à 100%, puis 3 fois avec 10 μL d'acide formique (CH_2O_2) à 0,1% (vol/vol) en jetant la solution à chaque fois. **Attention** à pipeter lentement!

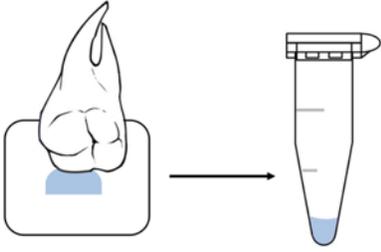
7. Ensuite, prendre l'Eppendorf contenant l'échantillon mis de côté à l'étape 5 et passer l'entièreté de cette solution 10 fois dans le ZipTip en pipetant et en relâchant dans l'Eppendorf (va-et-vient). **Attention** à ne pas faire de bulles d'air et de ne pas mettre l'embout dans le culot de résidus minéraux! Après le 10^{ième} passage, mettre l'entièreté des 60 μL dans un nouvel Eppendorf qui accueillera tous les rejets (*Flow-through* « FT ») pour cet échantillon.

8. Pour nettoyer le ZipTip, se faire un aliquote de 60 μL avec la solution d'acide formique (CH_2O_2) à 0,1% (vol/vol). Nettoyer 6 fois le ZipTip avec 10 μL d'acide formique (CH_2O_2) à 0,1% (vol/vol). Mettre le rejet dans l'Eppendorf FT à chaque fois.

9. Finalement, pour faire l'éluion des peptides restés dans la mini-colonne du ZipTip, mettre 4 μL d'un éluant (*elution buffer*) composé d'acétonitrile à 60% et d'acide formique à 0,1% dans un nouvel Eppendorf. Ajuster la micropipette à 4 μL et faire passer l'entièreté de l'éluant 10 fois dans le ZipTip en pipetant et en relâchant dans l'Eppendorf (va-et-vient). **Attention** à ne pas faire de bulles d'air! Après le 10^{ième} passage, s'assurer que le ZipTip est vide et conserver l'échantillon dans ce dernier Eppendorf. C'est cet Eppendorf contenant 4 μL de solution de peptides élués qui ira à l'analyse! **Attention** de ne pas rejeter dans le FT!

10. Recommencer les étapes 1 à 9 pour chacune des dents à analyser.

Montage



Montage des étapes 4 et 5 de l'abrasion de l'émail (modifié à partir de l'image du montage de Stewart et al. 2016). En bleu, la solution de peptides déminéralisés.

Annexe # 13

Estimation du sexe selon la présence (P) ou l'absence (A) de chaînes de peptides d'AMELX ou d'AMELY (N = 48)

Échantillons	AMELX	AMELY	Énaméline	Sexe protéomique
2B7 (fragment test)	P	P	P	M
4M1 (test)	P	P	P	M
2B7 (fragment test, sans ZipTip)	P	P	P	M
2E7	P	P	P	M
12Z-S1	P	P	P	M
12AA-S6	P	P	P	M
12D-S1	P	P	P	M
2B15	P	P	P	M
2G5	P	A	P	F
12CC-S3	P	A	P	F
2G4	P	P	P	M
1C2	P	A	P	F
2A2	P	A	P	F
2E13	P	A	A	F
1G2	P	A	A	F
2E4	P	A	P	F
12EE-S5	P	A	P	F
2E3	P	A	A	F
4G-S1	P	A	P	F
2A1 M ₁ D	A	A	A	ind.
11D-S1 M ₁ D	P	P	P	M
2E8 M ₁ G	P	P	P	M
2B5	P	P	P	M
2G6	P	A	P	F
2G12	P	A	P	F
12C-S2	P	P	P	M
12W-S13	P	A	P	F
2B12	P	A	P	F
2E2	P	A	A	F
2B14	P	A	A	F
2A13	P	A	A	F
7A11-S61	P	A	P	F
2A15	P	A	P	F

Échantillons	AMELX	AMELY	Énaméline	Sexe protéomique
1G5	P	A	P	F
7A9-S27	P	A	P	F
7A2-S7	P	P	P	M
7A2-S22	P	A	P	F
7A2-S1	P	A	A	F
7A2-S32	P	P	P	M
7A9-S16	P	P	P	M
7A9-S39	P	A	P	F
7A9-S38	P	A	P	F
7A9-S13	P	A	P	F
7A9-S53	P	A	P	F
7A2-S5	P	P	P	M
7A9-S55	P	A	P	F
7A2-S24	P	A	P	F
7A9-S18	P	P	P	M

Annexe # 14

Détail du sexe (protéomique) des individus en fonction du groupe d'âge par cimetière

Tous les cimetières (N = 47)

Sexe	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
F	8	5	4	3	7	2	29
M	3	1	1	2	6	4	17
Indéterminé	0	1	0	0	0	0	1
Total	11	7	5	5	13	6	47

Cimetière Notre-Dame de Ville-Marie (N = 10)

Sexe	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
F	0	1	0	1	2	0	4
M	1	0	1	1	2	1	6
Indéterminé	0	0	0	0	0	0	0
Total	1	1	1	2	4	1	10

Cimetière de Pointe-aux-Trembles (N = 15)

Sexe	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
F	5	1	0	0	3	1	10
M	2	0	0	0	1	2	5
Indéterminé	0	0	0	0	0	0	0
Total	7	1	0	0	4	3	15

Cimetière de Sainte-Marie de Beauce (N = 22)

Sexe	0-2,5 ans	2,5-5,5 ans	5,5-12 ans	15-20 ans	20-40 ans	> 40 ans	Total
F	3	3	4	2	2	1	15
M	0	1	0	1	3	1	6
Indéterminé	0	1	0	0	0	0	1
Total	3	5	4	3	5	2	22

Annexe # 15

Résultats des tests statistiques : Kappa de Cohen mesurant l'accord des résultats du sexe estimé d'après les méthodes ostéologiques traditionnelles et l'approche protéomique

Tous les cimetières, tous les groupes d'âge

	Valeur	Erreur asymptotique standard ^a	T approximatif ^b	Signification
Mesure d'accord Kappa	0,733	0,111	4,581	< 0,001
Nombre d'individus valides	39			

a. L'hypothèse nulle n'étant pas considérée.

b. Utilisation de l'erreur asymptotique standard en envisageant l'hypothèse nulle.

Tous les cimetières, individus juvéniles

	Valeur	Erreur asymptotique standard ^a	T approximatif ^b	Signification
Mesure d'accord Kappa	0,074	0,266	0,292	0,770
Nombre d'individus valides	15			

a. L'hypothèse nulle n'étant pas considérée.

b. Utilisation de l'erreur asymptotique standard en envisageant l'hypothèse nulle.

Tous les cimetières, individus adultes

	Valeur	Erreur asymptotique standard ^a	T approximatif ^b	Signification
Mesure d'accord Kappa	1,000	0,000	4,899	< 0,001
Nombre d'individus valides	24			

a. L'hypothèse nulle n'étant pas considérée.

b. Utilisation de l'erreur asymptotique standard en envisageant l'hypothèse nulle.

Cimetière Notre-Dame de Ville-Marie, tous les groupes d'âge

	Valeur	Erreur asymptotique standard ^a	T approximatif ^b	Signification
Mesure d'accord Kappa	0,769	0,212	2,372	0,018
Nombre d'individus valides	9			

a. L'hypothèse nulle n'étant pas considérée.

b. Utilisation de l'erreur asymptotique standard en envisageant l'hypothèse nulle.

Cimetière de Pointe-aux-Trembles, tous les groupes d'âge

	Valeur	Erreur asymptotique standard ^a	T approximatif ^b	Signification
Mesure d'accord Kappa	0,800	0,188	2,828	0,005
Nombre d'individus valides	12			

a. L'hypothèse nulle n'étant pas considérée.

b. Utilisation de l'erreur asymptotique standard en envisageant l'hypothèse nulle.

Cimetière de Sainte-Marie de Beauce, tous les groupes d'âge

	Valeur	Erreur asymptotique standard ^a	T approximatif ^b	Signification
Mesure d'accord Kappa	0,640	0,187	2,735	0,006
Nombre d'individus valides	18			

a. L'hypothèse nulle n'étant pas considérée.

b. Utilisation de l'erreur asymptotique standard en envisageant l'hypothèse nulle.

Valeurs du Kappa de Cohen et leur signification

Valeurs	Description de l'accord
0,8 – 1	Parfait
0,6 – 0,8	Presque parfait
0,4 – 0,6	Élevé
0,2 – 0,4	Modéré
0 – 0,2	Léger
0	Presque nul
Moins de 0	Nul

Résultats des tests statistiques : Alpha de Krippendorff mesurant la fiabilité inter-méthodologique des résultats du sexe estimé d'après les méthodes ostéologiques traditionnelles, l'approche protéomique et l'ADN (N = 8).

	Alpha	LL95%CI	UL95%CI	Nb d'individus	Nb de méthodes	Nb de paires
Valeurs	0,8036	0,7054	1,00	8	3	22

Probabilité (q) d'échec d'obtenir un alpha d'au moins alphamin

Alphamin	Probabilité (q)
0,90	28,41 %
0,80	9,06 %
0,70	2,44 %
0,67	2,44 %
0,60	0,55 %
0,50	0,07 %

Valeurs de l'alpha de Krippendorff et leur signification

Valeurs	Description de la fiabilité
0,8 – 1	Forte
0,67 – 0,8	Faible
0 – 0,67	Très faible
0	Nulle

Annexe # 16

Détail de la présence ou l'absence des peptides ciblés présents au moins une fois pour chaque échantillon : Énaméline et peptides d'AMELY

	Peptides						
	PYFGYFGYH	SM(ox)IRPPY	WYESM(ox)IRPPY	VLTPKWKYQSM(ox)IRPPY	M(ox)IRPPY	SMIRPPY	SM(ox)IRPPYS
Masse (m/z)	575,7533	440,2233	679,32	670,3568	396,7072	432,2258	483,7393
AMELX ou AMELY	énoméline	Y	Y	Y	Y	Y	Y
# Échantillon							
4	P	P	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a
5	P	P	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a
8	P	P	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a
9	P	P	n.a	A	P	A	P
10	P	P	n.a	A	A	P	P
11	P	P	n.a	A	A	A	P
12	P	P	n.a	P	A	A	P
13	P	P	n.a	A	A	P	A
14	P	A	n.a	A	A	A	A
15	P	A	A	A	A	A	A
16	P	P	P	P	P	P	P
17	P	A	A	A	A	A	A
18	P	A	A	A	A	A	A
19	A	A	A	A	A	A	A
20	A	A	A	A	A	A	A
22	P	A	A	A	A	A	A

	Peptides						
	PYFGYFGYH	SM(ox)IRPPY	WYESM(ox)IRPPY	VLTPWKWYQSM(ox)IRPPY	M(ox)IRPPY	SMIRPPY	SM(ox)IRPPYS
Masse (m/z)	575,7533	440,2233	679,32	670,3568	396,7072	432,2258	483,7393
AMELX ou AMELY	énaméline	Y	Y	Y	Y	Y	Y
# Échantillon							
23	P	A	A	A	A	A	A
24	A	A	A	A	A	A	A
25	P	A	n.a	A	A	A	A
27	A	A	A	A	A	A	A
28	P	P	n.a	A	P	P	P
29	P	P	n.a	A	P	A	P
30	P	P	n.a	A	P	A	P
31	P	A	n.a	A	A	A	A
32	P	A	n.a	A	A	A	A
33	P	A	n.a	A	A	P	P
34	P	A	n.a	A	A	A	A
35	P	A	A	A	A	A	A
36	A	A	A	A	A	A	A
37	A	A	A	A	A	A	A
38	A	A	A	A	A	A	A
39	P	A	A	A	A	A	A
40	P	A	A	A	A	A	A
41	P	A	A	A	A	A	A
42	P	A	A	A	A	A	A
43	P	P	A	A	P	P	P

	Peptides						
	PYFGYFGYH	SM(ox)IRPPY	WYESM(ox)IRPPY	VLTPWKWYQSM(ox)IRPPY	M(ox)IRPPY	SMIRPPY	SM(ox)IRPPYS
Masse (m/z)	575,7533	440,2233	679,32	670,3568	396,7072	432,2258	483,7393
AMELX ou AMELY	énaméline	Y	Y	Y	Y	Y	Y
# Échantillon							
44	P	A	A	A	A	A	A
45	A	A	A	A	A	A	A
46	P	P	A	A	A	A	P
47	P	P	P	P	A	P	P
48	P	A	A	A	A	A	A
49	P	A	A	A	A	A	A
50	P	A	A	A	A	A	A
51	P	A	A	A	A	A	A
52	P	P	A	A	A	A	P
53	P	A	A	A	A	A	A
54	P	A	A	A	A	A	A
55	P	A	A	A	A	A	P

Détail de la présence ou l'absence des peptides ciblés présents au moins une fois pour chaque échantillon : Peptides d'AMELX

Peptides													
	TALVLTPLK	WYQIRPPYP	WYESIRPPYP	WYESIRPPYPS	WYESIRPPYPSY	WYESIRPPYPSYG	SIRPPYPSYGPEPMG	SYEVLTPKWKYQIRPPYP	VLTPKWKYQIRPPYP	SYEVLTPK	YEVLTPKWKY	WLHHQIPVLS	M(ox)PLPPHPGHPGYINF
Masse (m/z)	478,313	653,8326	654,3259	697,84	779,37	807,88	857,401	780,0748	653,6961	525,2975	656,3528	448,5875	845,9063
AMELX ou AMELY	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y
# Échantillon													
4	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	P	n.a	n.a	n.a
5	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	P	n.a	n.a	n.a
8	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	P	n.a	n.a	n.a
9	P	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
10	P	P	P	A	A	A	A	A	A	P	P	A	P
11	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
12	P	A	P	A	P	P	A	P	P	P	P	A	P
13	P	A	P	A	A	A	P	A	A	P	P	A	P
14	P	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P

Peptides													
	TALVLTPLK	WYQIRPPYP	WYESIRPPYP	WYESIRPPYPS	WYESIRPPYPSY	WYESIRPPYPSYG	SIRPPYPSYGYEPMG	SYEVLTPKWKYQ̄SIRPPYP	VLTPKWKYQ̄SIRPPYP	SYEVLTPK	YEVLTPKWKY	WLHHQ̄IIPVLS	M(ox)PLPPHPGHPGYINF
Masse (m/z)	478,313	653,8326	654,3259	697,84	779,37	807,88	857,401	780,0748	653,6961	525,2975	656,3528	448,5875	845,9063
AMELX ou AMELY	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y
# Échantillon													
15	P	P	P	P	P	P	P	A	P	P	P	P	P
16	P	P	P	P	P	P	P	A	P	P	P	P	P
17	P	P	P	A	A	A	A	A	P	P	P	P	P
18	P	P	P	A	A	A	A	A	A	P	P	A	P
19	A	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P
20	P	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
22	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
23	P	P	P	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
24	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	A
25	P	A	P	A	A	A	A	A	A	P	P	A	P
27	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
28	P	A	P	A	A	A	A	A	P	P	P	P	P

Peptides													
	TALVLTPLK	WYQIRPPYP	WYESIRPPYP	WYESIRPPYPS	WYESIRPPYPSY	WYESIRPPYPSYG	SIRPPYPSYGYEPMG	SYEVLTPKWKYQ̄SIRPPYP	VLTPKWKYQ̄SIRPPYP	SYEVLTPK	YEVLTPKWKY	WLHHQ̄IIPVLS	M(ox)PLPPHPGHPGYINF
Masse (m/z)	478,313	653,8326	654,3259	697,84	779,37	807,88	857,401	780,0748	653,6961	525,2975	656,3528	448,5875	845,9063
AMELX ou AMELY	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y
# Échantillon													
29	P	A	P	A	A	A	A	A	A	P	P	P	P
30	P	A	P	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
31	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
32	P	P	P	A	P	A	A	A	P	P	P	P	P
33	P	A	P	A	A	A	P	A	A	P	P	A	P
34	P	P	A	A	A	A	A	A	A	P	P	A	P
35	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
36	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
37	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
38	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	A
39	P	A	P	A	A	A	A	A	P	P	P	P	P
40	P	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P

Peptides													
	TALVLTPLK	WYQIRPPYP	WYESIRPPYP	WYESIRPPYPS	WYESIRPPYPSY	WYESIRPPYPSYG	SIRPPYPSYGYEPMG	SYEVLTPKWKYQ̄SIRPPYP	VLTPKWKYQ̄SIRPPYP	SYEVLTPK	YEVLTPKWKY	WLHHQ̄IIPVLS	M(ox)PLPPHPGHPGYINF
Masse (m/z)	478,313	653,8326	654,3259	697,84	779,37	807,88	857,401	780,0748	653,6961	525,2975	656,3528	448,5875	845,9063
AMELX ou AMELY	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y
# Échantillon													
41	P	A	P	P	A	A	P	A	P	P	P	A	P
42	P	A	P	A	A	A	P	A	A	P	P	A	P
43	P	A	P	A	P	A	P	P	P	P	P	P	P
44	P	P	P	A	A	A	A	A	A	P	P	A	P
45	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	P	A	P
46	P	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
47	P	A	P	P	P	A	P	P	P	P	P	A	P
48	P	A	P	A	A	A	A	P	P	P	P	A	P
49	P	P	P	A	A	A	A	A	P	P	P	A	P
50	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	A
51	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
52	P	P	P	A	A	A	A	A	P	P	P	A	P

Peptides													
	TALVLTPLK	WYQIRPPYP	WYESIRPPYP	WYESIRPPYPS	WYESIRPPYPSY	WYESIRPPYPSYG	SIRPPYPSYGYEPMG	SYEVLTPKWKYQ̄SIRPPYP	VLTPKWKYQ̄SIRPPYP	SYEVLTPK	YEVLTPKWKY	WLHHQ̄IIPVLS	M(ox)PLPPHPGHPGYINF
Masse (m/z)	478,313	653,8326	654,3259	697,84	779,37	807,88	857,401	780,0748	653,6961	525,2975	656,3528	448,5875	845,9063
AMELX ou AMELY	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y
# Échantillon													
53	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P
54	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	A
55	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A	P

Détail du nombre de peptides d'AMELX et d'AMELY présents pour chaque échantillon

# Échantillon	Groupe d'âge	Nombre de peptides d'AMELY	Nombre de peptides d'AMELX	Total de peptides	Sexe protéomique
4	Adulte	1	1	2	M
5	Adulte	1	1	2	M

# Échantillon	Groupe d'âge	Nombre de peptides d'AMELY	Nombre de peptides d'AMELX	Total de peptides	Sexe protéomique
8	Adulte	1	1	2	M
9	Juvenile	3	3	6	M
10	Adulte	3	6	9	M
11	Juvenile	2	2	4	M
12	Adulte	3	9	12	M
13	Adulte	2	6	8	M
14	Juvenile	0	3	3	F
15	Adulte	0	12	12	F
16	Adulte	6	12	18	M
17	Juvenile	0	8	8	F
18	Juvenile	0	6	6	F
19	Adulte	0	2	2	F
20	Juvenile	0	3	3	F
22	Juvenile	0	2	2	F
23	Adulte	0	5	5	F
24	Juvenile	0	1	1	F
25	Adulte	0	5	5	F
27	Juvenile	0	0	0	ind.
28	Adulte	4	7	11	M
29	Adulte	3	6	9	M
30	Adulte	3	4	7	M
31	Adulte	0	2	2	F
32	Adulte	0	9	9	F
33	Juvenile	2	6	8	M
34	Juvenile	0	5	5	F
35	Juvenile	0	2	2	F

# Échantillon	Groupe d'âge	Nombre de peptides d'AMELY	Nombre de peptides d'AMELX	Total de peptides	Sexe protéomique
36	Juvenile	0	2	2	F
37	Adulte	0	2	2	F
38	Juvenile	0	1	1	F
39	Adulte	0	7	7	F
40	Juvenile	0	3	3	F
41	Adulte	0	8	8	F
42	Adulte	0	6	6	F
43	Adulte	4	10	14	M
44	Juvenile	0	6	6	F
45	Juvenile	0	3	3	F
46	Juvenile	2	3	5	M
47	Adulte	5	10	15	M
48	Juvenile	0	7	7	F
49	Adulte	0	7	7	F
50	Adulte	0	1	1	F
51	Juvenile	0	2	2	F
52	Adulte	2	7	9	M
53	Juvenile	0	2	2	F
54	Juvenile	0	1	1	F
55	Juvenile	1	2	3	M

Annexe # 17

Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour 48 échantillons

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY	Fréquence de détection	%
SM(ox)IRPPY	440,2233	Y	16	33,33
SM(ox)IRPPYS	483,7393	Y	14	29,17
SMIRPPY	432,2258	Y	7	14,58
M(ox)IRPPY	396,7072	Y	6	12,50
VLTPWKWYQSM(ox)IRPPY	670,3568	Y	3	6,25
WYESM(ox)IRPPY	679,32	Y	2	4,17
SYEVLTPK	525,2975	X, Y	45	93,75
M(ox)PLPPHPGHPGYINF	845,9063	X, Y	40	83,33
TALVLTPK	478,313	X	29	60,42
WYESIRPPYP	654,3259	X	25	52,08
YEVLTPKWKY	656,3528	X, Y	23	47,92
VLTPKWKYQSIRPPYP	653,6961	X	13	27,08
WYQSIRPPYP	653,8326	X	11	22,92
SIRPPYPSYGYEPMG	857,401	X	8	16,67
WLHHQIIPVLS	448,5875	X, Y	8	16,67
WYESIRPPYPSY	779,37	X	6	12,50
WYESIRPPYPS	697,84	X	4	8,33
SYEVLTPKWKYQSIRPPYP	780,0748	X	4	8,33
WYESIRPPYPSYG	807,88	X	3	6,25

Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les individus identifiés comme étant de sexe masculin (N = 18)

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY	Fréquence de détection	%
SM(ox)IRPPY	440,2233	Y	16	88,89
SM(ox)IRPPYS	483,7393	Y	14	77,78
SMIRPPY	432,2258	Y	7	38,89
M(ox)IRPPY	396,7072	Y	6	33,33
VLTPKWKYQSM(ox)IRPPY	670,3568	Y	3	16,67
WYESM(ox)IRPPY	679,32	Y	2	11,11

Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les 25 échantillons provenant d'individus adultes

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY	Fréquence de détection, adultes	%
SM(ox)IRPPY	440,2233	Y	13	52
SM(ox)IRPPYS	483,7393	Y	2	8
SMIRPPY	432,2258	Y	3	12
M(ox)IRPPY	396,7072	Y	5	20
VLTPWKWYQSM(ox)IRPPY	670,3568	Y	6	24
WYESM(ox)IRPPY	679,32	Y	9	36
SYEVLTPLK	525,2975	X, Y	18	72
M(ox)PLPPHPGHPGYINF	845,9063	X, Y	7	28
TALVLTPLK	478,313	X	19	76
WYESIRPPYP	654,3259	X	4	16
YEVLTPWKWY	656,3528	X, Y	6	24
VLTPWKWYQSIRPPYP	653,6961	X	3	12
WYQSIRPPYP	653,8326	X	7	28
SIRPPYPSYGYEPMG	857,401	X	3	12
WLHHQIIPVLS	448,5875	X, Y	11	44
WYESIRPPYPSY	779,37	X	24	96
WYESIRPPYPS	697,84	X	16	64
SYEVLTPWKWYQSIRPPYP	780,0748	X	7	28
WYESIRPPYPSYG	807,88	X	21	84

Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les individus identifiés comme étant de sexe masculin, individus adultes (N = 13)

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY	Fréquence de détection, adultes	%
SM(ox)IRPPY	440,2233	Y	13	100
SM(ox)IRPPYS	483,7393	Y	9	69,23
SMIRPPY	432,2258	Y	6	46,15
M(ox)IRPPY	396,7072	Y	5	38,46
VLTPWKWYQSM(ox)IRPPY	670,3568	Y	3	23,08
WYESM(ox)IRPPY	679,32	Y	2	15,38

Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les 23 échantillons provenant d'individus juvéniles

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY	Fréquence de détection, juvéniles	%
SM(ox)IRPPY	440,2233	Y	3	13,04
SM(ox)IRPPYS	483,7393	Y	0	0
SMIRPPY	432,2258	Y	0	0
M(ox)IRPPY	396,7072	Y	1	4,35
VLTPWKWYQSM(ox)IRPPY	670,3568	Y	1	4,35
WYESM(ox)IRPPY	679,32	Y	5	21,74
SYEVLTPWK	525,2975	X, Y	11	47,83
M(ox)PLPPHPGHPGYINF	845,9063	X, Y	4	17,39
TALVLTPWK	478,313	X	6	26,09
WYESIRPPYP	654,3259	X	0	0
YEVLTPWKWY	656,3528	X, Y	0	0
VLTPWKWYQSIRPPYP	653,6961	X	0	0
WYQSIRPPYP	653,8326	X	1	4,35
SIRPPYPSYGYEPMG	857,401	X	1	4,35
WLHHQIIPVLS	448,5875	X, Y	2	8,70
WYESIRPPYPSY	779,37	X	21	91,30
WYESIRPPYPS	697,84	X	7	30,43
SYEVLTPWKWYQSIRPPYP	780,0748	X	1	4,35
WYESIRPPYPSYG	807,88	X	19	82,61

Détail de la fréquence de détection des peptides détectés au moins une fois pour les individus identifiés comme étant de sexe masculin, individus juvéniles (N = 5)

Peptides	Masse (m/z)	AMELX ou AMELY	Fréquence de détection, juvéniles	%
SM(ox)IRPPY	440,2233	Y	3	60
SM(ox)IRPPYS	483,7393	Y	5	100
SMIRPPY	432,2258	Y	1	20
M(ox)IRPPY	396,7072	Y	1	20
VLTPWKWYQSM(ox)IRPPY	670,3568	Y	0	0
WYESM(ox)IRPPY	679,32	Y	0	0

Annexe # 18

Détails des analyses pour les individus dont la protéomique a modifié l'estimation du sexe ($N = 6$).

Individus	Échantillon	Âge	Nombre de peptides détectés	Nombre de biomarqueurs	Détails des résultats	Commentaires	Conservation
12AA-S6	11	Juvenile	Y = 2, X = 2	Y = 2, X = 2	Modifié : F → M	Deux essais. 1 ^{er} : Aucun peptide détecté. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Brunâtre
7A2-S32	46	Juvenile	Y = 2, X = 3	Y = 2, X = 3	Modifié : F → M	Aucun problème de manipulations.	Grisâtre
2A2	18	Juvenile	Y = 0, X = 6	Y = 0, X = 4	Modifié : TM → F	Aucun problème de manipulations.	Fissure
2E2	36	Juvenile	Y = 0, X = 2	Y = 0, X = 2	Modifié : TM → F	Aucun problème de manipulations.	Grisâtre
2E7	9	Juvenile	Y = 3, X = 3	Y = 2, X = 3	Modifié : F → M	Aucun problème de manipulations.	Gris/brun
2A1	27	Juvenile	Y = 0, X = 0	Y = 0, X = 0	Non concluant : F → ind.	Deux essais. 1 ^{er} : Liquide difficile à recueillir, car absorbé par la fissure. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Fissure

Détails des analyses des individus identifiés comme masculins par la protéomique ($N = 17$).

Individus	Échantillon	Âge	Nombre de peptides détectés	Présence des biomarqueurs SM(ox)IRPPY, SM(ox)IRPPYS	Détails des résultats	Commentaires	Conservation
11D-S1	28	Adulte	Y = 4, X = 7	P, P	Confirmé : M → M	Aucun problème de manipulations.	Dentine exposée, usure dentaire forte
12C-S2	33	Juvenile	Y = 2, X = 6	A, P	Confirmé : TM → M	Aucun problème de manipulations.	Dentine exposée,

Individus	Échantillon	Âge	Nombre de peptides détectés	Présence des biomarqueurs SM(ox)IRPPY, SM(ox)IRPPYS	Détails des résultats	Commentaires	Conservation
							usure dentaire légère
12AA-S6	11	Juvenile	Y = 2, X = 2	P, P	Modifié : F → M	Deux essais. 1 ^{er} : Aucun peptide détecté. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Brunâtre
12D-S1	12	Adulte	Y = 3, X = 9	P, P	Confirmé : TM → M	Deux essais. 1 ^{er} : Aucun peptide détecté. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Dentine exposée, usure dentaire forte
4M1	5 (test)	Adulte	Y = 1, X = 1	P, A	Confirmé : M → M	Détermination du protocole. Aucun problème de manipulations.	Dentine exposée, usure dentaire légère
12Z-S1	10	Adulte	Y = 3, X = 6	P, P	Confirmé : M → M	Aucun problème de manipulations.	Dentine exposée, usure dentaire légère
7A2-S5	52	Adulte	Y = 2, X = 7	P, P	Confirmé : TM → M	Aucun problème de manipulations.	Bonne, carie à la jonction entre la racine et la couronne
7A2-S7	43	Adulte	Y = 4, X = 10	P, P	Confirmé : TM → M	Aucun problème de manipulations.	Dentine exposée, usure dentaire forte
7A2-S32	46	Juvenile	Y = 2, X = 3	P, P	Modifié : F → M	Aucun problème de manipulations.	Grisâtre
7A9-S16	47	Adulte	Y = 5, X = 10	P, P	Confirmé : TM → M	Aucun problème de manipulations.	Tartre, carie à la jonction entre la racine et la couronne
7A9-S18	55	Juvenile	Y = 1, X = 2	A, P	Attribué : ind. → M	Aucun problème de manipulations.	Brunâtre

Individus	Échantillon	Âge	Nombre de peptides détectés	Présence des biomarqueurs SM(ox)IRPPY, SM(ox)IRPPYS	Détails des résultats	Commentaires	Conservation
2B15	13	Adulte	Y = 2, X = 6	P, A	Confirmé : M → M	Aucun problème de manipulations.	Bonne
2B5	30	Adulte	Y = 3, X = 4	P, P	Confirmé : M → M	Aucun problème de manipulations.	Dentine exposée, usure dentaire légère
2B7	8 (test)	Adulte	Y = 1, X = 1	P, A	Confirmé : TM → M	Détermination du protocole. Aucun problème de manipulations.	Dentine exposée, usure dentaire légère
2E7	9	Juvenile	Y = 3, X = 3	P, P	Modifié : F → M	Aucun problème de manipulations.	Gris/brun
2E8	29	Adulte	Y = 3, X = 6	P, P	Confirmé : M → M	Aucun problème de manipulations.	Bonne
2G4	16	Adulte	Y = 6, X = 12	P, P	Confirmé : M → M	Aucun problème de manipulations.	Bonne

Détails des analyses des individus dont l'échantillon dentaire provient de germes de dents permanentes en croissance (N = 12).

Individus	Échantillon	Âge	Nombre de peptides détectés	Nombre de biomarqueurs	Détails des résultats	Commentaires	Conservation
12AA-S6	11	Juvenile	Y = 2, X = 2	Y = 2, X = 2	Modifié : F → M	Deux essais. 1 ^{er} : Aucun peptide détecté. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Brunâtre
7A9-S18	55	Juvenile	Y = 1, X = 2	Y = 1, X = 2	Attribué : ind. → M	Aucun problème de manipulations.	Brunâtre
7A2-S24	54	Juvenile	Y = 0, X = 1	Y = 0, X = 1	Confirmé : F → F	Aucun problème de manipulations.	Brunâtre
7A2-S32	46	Juvenile	Y = 2, X = 3	Y = 2, X = 3	Modifié : F → M	Aucun problème de manipulations.	Grisâtre
2E2	36	Juvenile	Y = 0, X = 2	Y = 0, X = 2	Modifié : TM → F	Aucun problème de manipulations.	Grisâtre
2E3	24	Juvenile	Y = 0, X = 1	Y = 0, X = 1	Confirmé : F → F	Aucun problème de manipulations.	Grisâtre

Individus	Échantillon	Âge	Nombre de peptides détectés	Nombre de biomarqueurs	Détails des résultats	Commentaires	Conservation
2E4	22	Juvenile	Y = 0, X = 2	Y = 0, X = 2	Confirmé : F → F	Deux essais. 1 ^{er} : Aucun peptide détecté. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Bonne
2E7	9	Juvenile	Y = 3, X = 3	Y = 2, X = 3	Modifié : F → M	Aucun problème de manipulations.	Gris/brun
2B12	35	Juvenile	Y = 0, X = 2	Y = 0, X = 2	Attribué : ind. → F	Deux essais. 1 ^{er} : Aucun peptide détecté. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Grisâtre
2A15	40	Juvenile	Y = 0, X = 3	Y = 0, X = 3	Confirmé : F → F	Deux essais. 1 ^{er} : Aucun peptide détecté. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Bonne
1G2	20	Juvenile	Y = 0, X = 3	Y = 0, X = 3	Attribué : ind. → F	Aucun problème de manipulations.	Grisâtre
2A1	2 (test)	Juvenile	Y = 0, X = 0	Y = 0, X = 0	Non concluant : F → ind.	Détermination du protocole. Aucun problème de manipulations.	Brunâtre

Détails des analyses pour les individus dont la protéomique a attribué une estimation du sexe (N = 7).

Individus	Échantillon	Âge	Nombre de peptides détectés	Nombre de biomarqueurs	Détails des résultats	Commentaires	Conservation
12W-S13	34	Juvenile	Y = 0, X = 5	Y = 0, X = 3	Attribué : ind. → F	Aucun problème de manipulations.	Bonne
7A9-S18	55	Juvenile	Y = 1, X = 2	Y = 1, X = 2	Attribué : ind. → M	Aucun problème de manipulations.	Brunâtre
7A9-S53	51	Juvenile	Y = 0, X = 2	Y = 0, X = 2	Attribué : ind. → F	Aucun problème de manipulations.	Brunâtre
7A9-S55	53	Juvenile	Y = 0, X = 2	Y = 0, X = 2	Attribué : ind. → F	Aucun problème de manipulations.	Brunâtre

Individus	Échantillon	Âge	Nombre de peptides détectés	Nombre de biomarqueurs	Détails des résultats	Commentaires	Conservation
1G2	20	Juvénile	Y = 0, X = 3	Y = 0, X = 3	Attribué : ind. → F	Aucun problème de manipulations.	Grisâtre
2A13	38	Juvénile	Y = 0, X = 1	Y = 0, X = 1	Attribué : ind. → F	Aucun problème de manipulations.	Bonne
2B12	35	Juvénile	Y = 0, X = 2	Y = 0, X = 2	Attribué : ind. → F	Deux essais. 1 ^{er} : Aucun peptide détecté. 2 ^e : Avec fragment, aucun problème de manipulations.	Grisâtre

Annexe # 19

Détail du sexe (ostéologie vs protéomique) des individus adultes et juvéniles par cimetière

Tous les cimetières (N = 47)

Sexe	Ostéologie	Protéomique
Femmes	12	12
Filles	13	17
Hommes	12	12
Garçons	3	5
Adultes ind.	0	0
Juveniles ind.	7	1
Total	47	47

Cimetière Notre-Dame de Ville-Marie (N = 10)

Sexe	Ostéologie	Protéomique
Femmes	3	3
Filles	1	1
Hommes	4	4
Garçons	1	2
Adultes ind.	0	0
Juveniles ind.	1	0
Total	10	10

Cimetière de Pointe-aux-Trembles (N = 15)

Sexe	Ostéologie	Protéomique
Femmes	4	4
Filles	5	6
Hommes	3	3
Garçons	0	2
Adultes ind.	0	0
Juveniles ind.	3	0
Total	15	15

Cimetière de Sainte-Marie de Beauce (N = 22)

Sexe	Ostéologie	Protéomique
Femmes	5	5
Filles	7	10
Hommes	5	5
Garçons	2	1
Adultes ind.	0	0
Juveniles ind.	3	1
Total	22	22