

DÉVELOPPEMENT D'UNE LIGNÉE CELLULAIRE DE GONOCYTES DE RAT POUR L'ÉVALUATION TOXICOLOGIQUE DES POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX

Fabien Joao et Géraldine Delbès

INRS – Institut Armand Frappier, Laval, Québec

Les gonocytes, précurseurs fœtaux de toute la lignée germinale, sont sensibles aux perturbateurs endocriniens. Pour créer un modèle d'étude permettant de tester les mécanismes de dérégulation directement dans les gonocytes, nous proposons d'établir une lignée cellulaire de gonocytes fœtaux. Les gonocytes en prolifération sont obtenus par FACS à partir de testicules de rats exprimant la GFP exclusivement dans les cellules germinales explantés aux jours de gestation G15 et G16. A ces deux stades, nous avons testé les conditions de culture primaire dans différents milieux, et sur différents supports. Explantés à G15, les gonocytes perdent rapidement leur morphologie et leur fluorescence. Cependant, les gonocytes obtenus à G16 se maintiennent sur la laminine, dans un milieu MEM α additionné de bFGF et SCF avec un taux de prolifération de $23.15\% \pm 3.19$ ($n = 5$), mesuré par incorporation de BrdU à 24h de culture. Après transfection avec un vecteur d'immortalisation contenant l'antigène large T SV40-mCherry, nous avons obtenu deux lignées de cellules immortalisées, positives pour la mCherry mais étonnement négatives pour la GFP. Ces dernières forment un tapis de cellules adhérentes de type épithélial. Des tests par immunofluorescence montrent que ces cellules expriment l'HSP90 mais pas l'AMH. Afin de mieux caractériser ces cellules, nous testerons l'expression de marqueurs des cellules germinales (Gfra1, Oct-4, Plzf, Ret et Nanog) et somatiques (Amh, Sox9, 3 β hsd et α -sma) par immunofluorescence et RT-qPCR. Ces lignées ont le potentiel de constituer un bon modèle pour évaluer les effets directs des xénobiotiques sur les gonocytes fœtaux.