



PLAYLYST : Propriétés et affinité de ligands de récepteurs susceptibles de fixer des perturbateurs endocriniens chez *Lymnaea stagnalis* (Mollusque, Gastéropode)

Laurent LAGADIC¹ ; Patrick BALAGUER² ; William BOURGUET³ ; Marie-Agnès COUTELLEC¹

1-INRA UMR0985 AgroCampus Ouest, Rennes ; 2- Inserm U896 - Université Montpellier 1 - Institut Régional du Cancer, Montpellier ; 3- Inserm UMR1054 – CNRS UMR 5048- Université Montpellier 1, Montpellier

Contact : Laurent.Lagadic@rennes.inra.fr

Introduction

Le gastéropode aquatique *Lymnaea stagnalis* a été retenu pour le développement de Lignes Directrices de l'OCDE pour des tests de reprotoxicité sur mollusque aquatique. Aucun protocole de ce type n'est encore actuellement disponible. Il s'agit de tests *in vivo* sur cycle de vie partiel ou complet qui se positionnent respectivement aux niveaux 4 et 5 du Cadre Conceptuel de l'OCDE pour les tests et l'évaluation des perturbateurs endocriniens. Le développement de ces protocoles de test a été pris en charge par un groupe d'experts européens dans lequel l'INRA coordonne plus spécifiquement tous les travaux portant sur la lymnée. Le projet de Ligne Directrice sur cycle de vie partiel devrait pouvoir être soumis à l'OCDE à la fin de l'année 2014. Ce test *in vivo* repose essentiellement sur des mesures de traits de vie caractérisant la reproduction, notamment fécondité et fertilité. Ces critères peuvent varier sous l'effet de perturbateurs endocriniens mais ils peuvent aussi réagir à des composés agissant sur la reproduction par d'autres modes d'action. Il est donc indispensable d'associer ce test de niveau 4 avec des tests permettant d'identifier le(s) mécanisme(s) qui sous-tende(nt) les effets *in vivo*.

Objectifs

L'objectif du programme PLAYLYST est précisément de développer des méthodes *in silico* (niveau 1) et *in vitro* (niveau 2) permettant d'identifier sans équivoque le caractère perturbateur endocrinien de composés qui s'avèreraient positifs dans le test de reprotoxicité de niveau 4 et, par la suite, de niveau 5 lorsque le test sur cycle de vie complet sera disponible.

Méthodologies à mettre en œuvre

L'option retenue dans PLAYLYST est d'avoir recours à l'expression des gènes du récepteur aux œstrogènes (ER) et du récepteur au rétinol X de la lymnée (respectivement dénommés LymER et LymRXR) dans un système cellulaire rapporteur sur lequel seront testés un certain nombre de perturbateurs endocriniens parmi lesquels se trouvent l'éthinylestradiol, le bisphénol A (et certains de ses substituts) et différents types de pesticides. Du point de vue méthodologique, PLAYLYST se décomposera en plusieurs étapes consistant successivement à (i) exploiter les ressources génétiques disponibles chez la lymnée et/ou d'autres espèces de mollusques pour obtenir la séquence codante des gènes ER et RXR, (ii) synthétiser des vecteurs d'expression de ces gènes, (iii) tester leur inductibilité par des ligands connus des récepteurs ER et RXR humains par transfection transitoire ou stabilisée. En complément de cette démarche, qui aboutira à un test *in vitro* de niveau 2, les domaines de fixation des ligands sur LymER et LymRXR seront modélisés de façon à tester *in silico* un plus grand nombre de ligands (niveau 1).

Retombées attendues

Les principales retombées du programme PLAYLYST se conçoivent en termes de développement de tests *in silico* et/ou *in vitro* en appui au test *in vivo* disponible chez *Lymnaea stagnalis*. Plus précisément, le test *in vitro* permettra d'identifier, parmi les substances qui seront à l'origine d'effets sur la reproduction, celles dont le mécanisme d'action passe par des récepteurs nucléaires. La nécessité de disposer, pour une même espèce, de tests *in vitro* et *in vivo* est unanimement reconnue par les experts dans le domaine de l'évaluation des perturbateurs endocriniens, notamment au sein de l'OCDE, de l'US EPA ou d'ECETOC. La combinaison de tests *in vitro* et *in vivo* existe pour certains vertébrés ; ce n'est pas encore le cas pour les invertébrés. Le programme PLAYLYST devrait permettre de combler cette lacune.

Indépendamment de ces retombées appliquées, PLAYLYST permettra d'acquérir des connaissances de nature plus fondamentale sur la fonctionnalité des récepteurs ER et RXR chez la lymnée, contribuant ainsi à répondre aux questionnements sur le rôle biologique de ces récepteurs chez les mollusques.